

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织  
国际局



(43) 国际公布日:  
2001年6月21日(21.06.2001)

PCT

(10) 国际公布号:  
WO 01/44263 A1

(51) 国际分类号<sup>7</sup>: C07H 3/06, A61K 31/702

(21) 国际申请号: PCT/CN00/00224

(22) 国际申请日: 2000年8月7日(07.08.2000)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:  
99126224.7 1999年12月16日(16.12.1999) CN  
00100376.3 2000年1月19日(19.01.2000) CN

(71) 申请人(对除美国以外的所有指定国): 中国科学院  
生态环境研究中心(RESEARCH CENTER FOR  
ECO-ENVIRONMENTAL SCIENCES, ACADEMIA  
SINICA) [CN/CN]; 中国北京市海淀区双清路18号,  
Beijing 100085 (CN)。

(72) 发明人;及

(75) 发明人/申请人(仅对美国): 孔繁祚(KONG, Fanzuo)  
[CN/CN]; 宁君(NING, Jun) [CN/CN]; 中国北京市  
海淀区双清路18号, Beijing 100085 (CN)。

(74) 代理人: 隆天国际专利商标代理有限公司(LUNG TIN  
INT'L PATENT & TRADEMARK AGENT LTD.);

中国北京市海淀区知春路20号国际企业合作商务大厦  
504-511室, Beijing 100088 (CN)。

(81) 指定国(国家): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA,  
BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CR, CU, CZ, DE, DK,  
DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU,  
ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR,  
LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX,  
MZ, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK,  
SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU,  
ZA, ZW

(84) 指定国(地区): ARIPO专利(GH, GM, KE, LS, MW,  
MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), 欧亚专利(AM, AZ,  
BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), 欧洲专利(AT, BE,  
CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU,  
MC, NL, PT, SE), OAPI专利(BF, BJ, CF, CG, CI,  
CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG)

本国际公布:  
— 包括国际检索报告。

所引用双字母代码和其它缩写符号, 请参考刊登在每期  
PCT公报期刊起始的“代码及缩写符号简要说明”。

(54) Title: OLIGOSACCHARIDES, A PROCESS FOR PREPARATION THEREOF AND PHARMACEUTICAL  
COMBINATION CONTAINING THE SAME COMPOUNDS

(54) 发明名称: 一种寡糖和其制备方法及含有该寡糖的药物组合物

(57) Abstract: This invention relates to the oligosaccharides with enhancing immune and antitumor activity. The described oligosaccharides have a main chain consisting of 3-14 sugar residues and side chains consisting of 0-4 sugar residues. The sugar residues are either the same or different. The described sugar residues on the main chain are linked through 1→3β or 1→4β linkage. The described side chains are linked with the main chain through 1→6β or 1→6α linkage. The described terminal group is hydroxyl or C<sub>1-12</sub> alkoxyl group. This invention also involves the preparation of the described oligosaccharides, in the process 1,2: 5,6-di-O-isopropylidene glucose is used as the starting material and the glycosyl acceptor and acylated sugars are used as the glycosyl donors for the preparation of said oligosaccharide. In addition, the pharmaceutical composition of the described oligosaccharides and their use as enhancing immune and antitumor agents, and as health maintaining products are involved.

WO 01/44263 A1



---

**(57) 摘要**

本发明涉及一种具有增强免疫力、抗肿瘤活性的寡糖，该寡糖的主链为 3-14 个糖基，其侧链为 0-4 个糖基，且主链和侧链可为相同或不同的糖基，所述的主链糖基为  $1 \rightarrow 3\beta$  或  $1 \rightarrow 4\beta$  连接，所述侧链与主链为  $1 \rightarrow 6\beta$  或  $1 \rightarrow 6\alpha$  连接，所述的端基可为羟基或  $C_{1-12}$  的烷氧基。本发明还涉及所述寡糖的制备方法，该方法是以 1,2:5,6-二-O-异丙叉基葡萄糖为起始物作为糖基受体，用酰基糖作为糖基供体来制备所述寡糖。另外，还涉及含有该寡糖的药物组合物及所述寡糖在制备增强免疫力、抗肿瘤和治疗癌症的药物和保健品中的应用。

## 一种寡糖和其制备方法及含有该寡糖的药物组合物

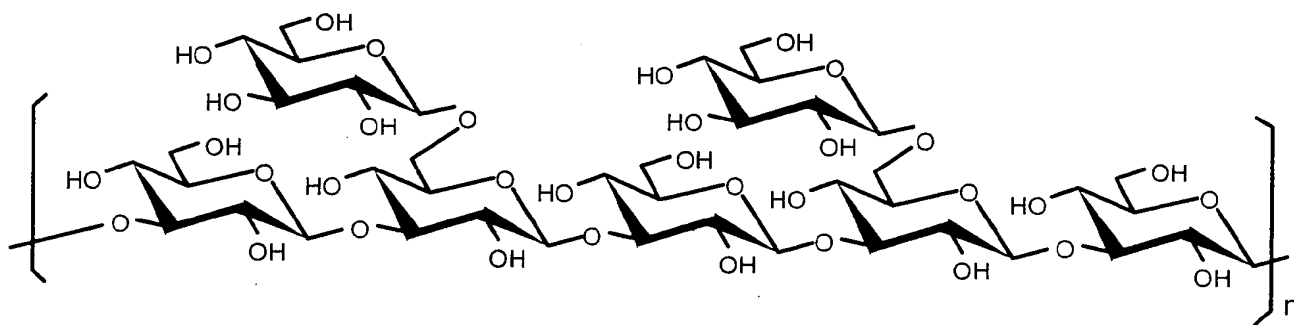
### 技术领域

本发明涉及一种寡糖，特别是涉及一种具有生物活性的可药用的寡糖，具体的是涉及以 1,2:5,6-二-O-异丙叉基为起始物的香菇寡糖；本发明还涉及所述寡糖的制备方法及其含有该寡糖的药物组合物。

### 背景技术

根据目前所知，能增强动物免疫能力并具有抗肿瘤活性的糖，大多为多糖，如香菇多糖、灵芝多糖等由实用菌中提取的多糖，或中草药中提取的多糖。已研究清楚的、有明确免疫、抗肿瘤活性的寡糖并不多，如 $\alpha$ -L-Fuc(1-2)- $\beta$ -D-Gal(1-3)- $\beta$ -D-GalNAc-(1-3)- $\alpha$ -D-Gal-(1-4)- $\beta$ -D-Gal-(1-4)- $\beta$ -D-Glu（由岩藻糖、半乳糖、N-乙酰基半乳糖及葡萄糖组成的 7 糖），是一个能作为抗乳腺癌的 7 糖抗原（见 J. Am. Chem. Soc., 117, 1995, 7840），正在进行临床研究。香菇多糖是有明确抗肿瘤活性、提高人体免疫力的多糖，它不是直接去攻击肿瘤细胞，而是通过激活人体的免疫系统从而杀死肿瘤细胞，它在起作用时首先与哪个受体结合，至今仍未搞清。最先发现香菇多糖抗肿瘤活性的日本科学家认为，香菇多糖的三重螺旋结构是保持它活性的必要结构，并举例说未经处理的分子量为百万的香菇多糖，与经过酸水解的分子量为 1.4 万的小香菇多糖都具有三重螺旋结构，因此具有类似的活性[[Carbohydr. Res. 1993, 245, 81-96. Nature 1969, 222, 687]。但我们认为其三重螺旋结构是由其一级结构，即组成多糖的重复单元寡糖的结构决定的，由这个寡糖与受体作用，启动免疫过程。我们在前一个专利（宁君 孔繁祚 中国专利申请号：99126224.7）中已报道了香菇多糖核心片段的首次合成，本发明即是关于香菇多糖的核心片段寡糖的免疫、抗肿瘤活性的研究结果及其它可用作增强免疫力、抗肿瘤，治疗癌症的保健品或药物的寡糖。

下图为香菇多糖重复单元 7 糖的结构。



由于与不同病相联系的抗原的寡糖的结构不同，用现有的方法在合成某些寡糖时仍很不容易。迄今为止，尚未见关于香菇多糖的寡糖重复单元的合成报道。

#### 发明的公开

本发明的首要目的是提供一种具有增强免疫力、抗肿瘤活性的寡糖；

本发明的另一目的是提供一种所述寡糖的制备方法；

本发明的再一目的是提供一种可增强免疫力、抗肿瘤和治疗癌症的药物组合物；

本发明进一步的目的是提供所述的寡糖在作为制备增强免疫力、抗肿瘤和治疗癌症的药物或作为保健品的用途。

本发明涉及一种寡糖，其具有下述式[I]：



式中： $[R]_n$ 为所述寡糖的主链，R为糖基，n为3-14的整数；

$(R_1)_m$ 为所述寡糖的侧链， $R_1$ 为糖基，m为0-4的整数，

并且R和 $R_1$ 可为相同或不同的糖基；

$R_2$ 和 $R_3$ 为端基，它们可相同或不同，其独自表示羟基、 $C_{1-12}$ 烷氧基；

所述的主链糖基R为1→3β或1→4β连接；所述的侧链糖基 $R_1$ 与主链糖基R的连接为1→6β或1→6α连接。

按照本发明所述的寡糖，所述的主链糖基 R 优选为  $1 \rightarrow 3\beta$  连接；其中所述的侧链  $R_1$  可在主链的糖基上紧密并排排列，或由一个或多个主链糖基隔开排列。

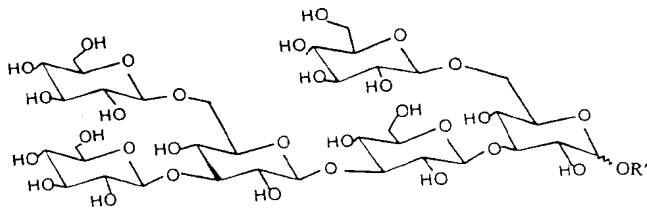
在本发明所述的寡糖式[I]中，所述的主链 R 可为葡萄糖基或甘露糖基，所述的侧链  $R_1$  可为单糖或多糖，优选的是，主链 R，或主链 R 和侧链  $R_1$  均为葡萄糖。

其中，本发明所述的寡糖式 (I) 中的端基  $R_2$  或  $R_3$  优选为羟基、甲氧基、丙氧基、辛氧基或月桂氧基。

本发明所述的寡糖优选为 4 糖、5 糖、6 糖或 7 糖的寡糖，更优选的是，所述的 4 糖、5 糖、6 糖或 7 糖中的糖均为葡萄糖；所述的 4 糖亦可为  $\alpha$ -Man- $1 \rightarrow 3$ - $\beta$ -Glu- $1 \rightarrow 3$ - $\beta$ -Glu- $1 \rightarrow 3$ - $\alpha$ 、 $\beta$ -Glu，所述的 5 糖的主链亦可为  $1 \rightarrow 3\beta$  连接或  $1 \rightarrow 4\beta$  连接；

$\beta$ -Glu- $1 \rightarrow 3$ - $\beta$ -Glu- $1 \rightarrow 3$ - $\beta$ -Glu- $1 \rightarrow 3$ - $\beta$ -Glu- $1 \rightarrow 3$ -Glu  
或  $\alpha$ -Man- $1 \rightarrow 3$ - $\beta$ -Glu- $1 \rightarrow 4$ - $\beta$ -Glu- $1 \rightarrow 3$ - $\beta$ -Glu- $1 \rightarrow 3$ -Glu  
其中：Glu 为葡萄糖，Man 为甘露糖。

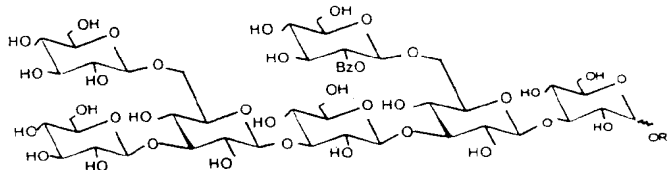
所述的 6 糖为下式 18，



18

式中：R' 为氢、甲基、丙基、辛基或月桂基。

所述的 7 糖为下式 24，



24

式中：R' 为氢、甲基、丙基、辛基或月桂基。

本发明还涉及一种用于制备寡糖的方法，该寡糖具有下式[I]，



式中： $[\text{R}]_n$ 为所述寡糖的主链，R为糖基，n为3-14的整数；

$(\text{R}_1)_m$ 为所述寡糖的侧链， $\text{R}_1$ 为糖基，m为0-4的整数；

并且R和 $\text{R}_1$ 可为相同或不同的糖基；

$\text{R}_2$ 和 $\text{R}_3$ 为端基，它们可相同或不同，其独自表示羟基、 $\text{C}_{1-12}$ 烷氧基。

其中所述的主链糖基R为1 $\rightarrow$ 3 $\beta$ 或1 $\rightarrow$ 4 $\beta$ 连接，所述的侧链糖基 $\text{R}_1$ 与主链糖基R的连接为1 $\rightarrow$ 6 $\beta$ 或1 $\rightarrow$ 6 $\alpha$ 连接；

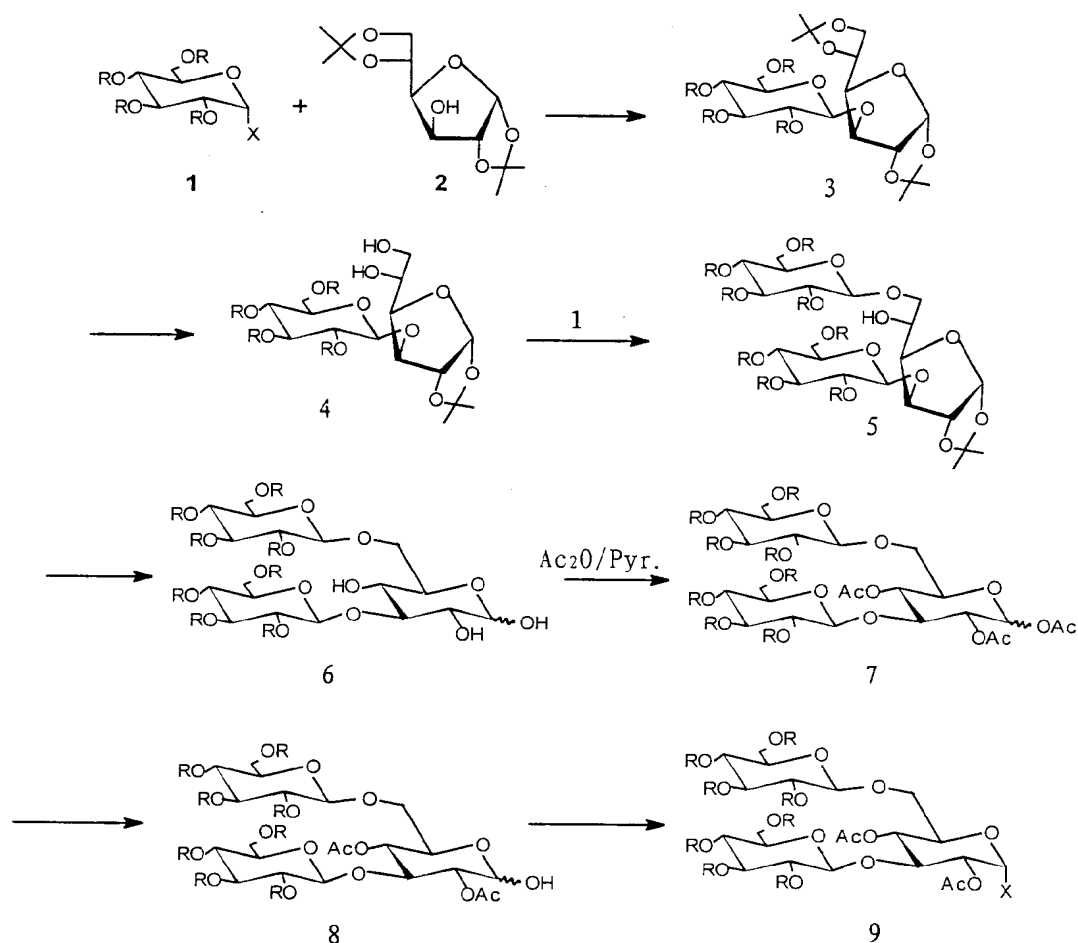
该方法包括：将具有一个糖基的酰基糖的三氯乙酰亚胺酯或卤化物作为糖基供体，以1,2:5,6-二-O-异丙叉保护的葡萄糖作为糖基受体，将所述的糖基供体与糖基受体分别溶于作为有机溶剂的卤代烷烃中，将二者混合，在路易斯酸催化剂存在下，制备出1 $\rightarrow$ 3 $\beta$ 连接的双糖，选择性地水解掉5,6-O-异丙叉基，得到5,6位为游离羟基的双糖，再使用上述的作为糖基供体的具有一个糖基的酰基糖与作为糖基受体的双糖，在路易斯酸催化剂存在下进行偶联反应得到3糖，将3糖在酸性条件下水解得扩环后的酰基糖，接着进行酰化反应得酰化的酰基糖，然后用碱脱掉酰基，即可得到游离的3糖；用上述类似的方法，可以选择所需的糖基供体和糖基受体在路易斯酸催化剂存在下进行偶联反应，再脱保护可得到式[I]所述的寡糖。

在本发明所述的寡糖制备方法中，所述的作为有机溶剂的卤代烷烃可为四氯甲烷、三氯甲烷、二氯甲烷或二氯乙烷；所述的路易斯酸为银盐、三氟化硼或三氟甲磺酸三甲基硅酯，其中所述的银盐可为碳酸银或三氟甲磺酸银。

下面进一步描述本发明的寡糖的制备方法。

### 3糖供体的制备：

以1摩尔的酰基葡萄糖1为糖基供体，以1.2摩尔的1,2:5,6-二-O-异丙叉保护的葡萄糖2为糖基受体，将糖基供体与糖基受体分别溶于二氯甲烷中，然后将二者混合，在路易斯酸催化，室温搅拌下，反应2-4小时，制备出1,3- $\beta$ -连接的双糖3。选择性地水解掉5,6-O-异丙叉基，得到5,6位为游离羟基的双糖4，再使等摩尔比的糖基供体1与糖基受体4在路易斯酸催化，室温搅拌下偶联，得到3糖5，将5在酸性条件下水解得到6、接着乙酰化得到7、再选择性地脱掉1位的乙酰基得到8，8与三氯乙腈反应，得到3糖的糖基供体9。如下图所示：

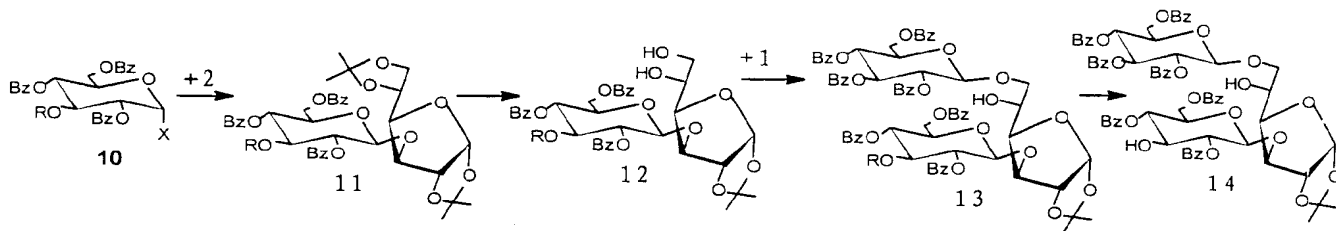


式中：R =  $\text{CH}_3\text{CO}-$  (乙酰基) 或  $\text{PhCO}-$  (苯甲酰基)

X = Br 或 Cl 或  $\text{CCl}_3\text{C}(\text{NH})-$  (三氯乙酰亚胺基)

3 糖受体的制备：

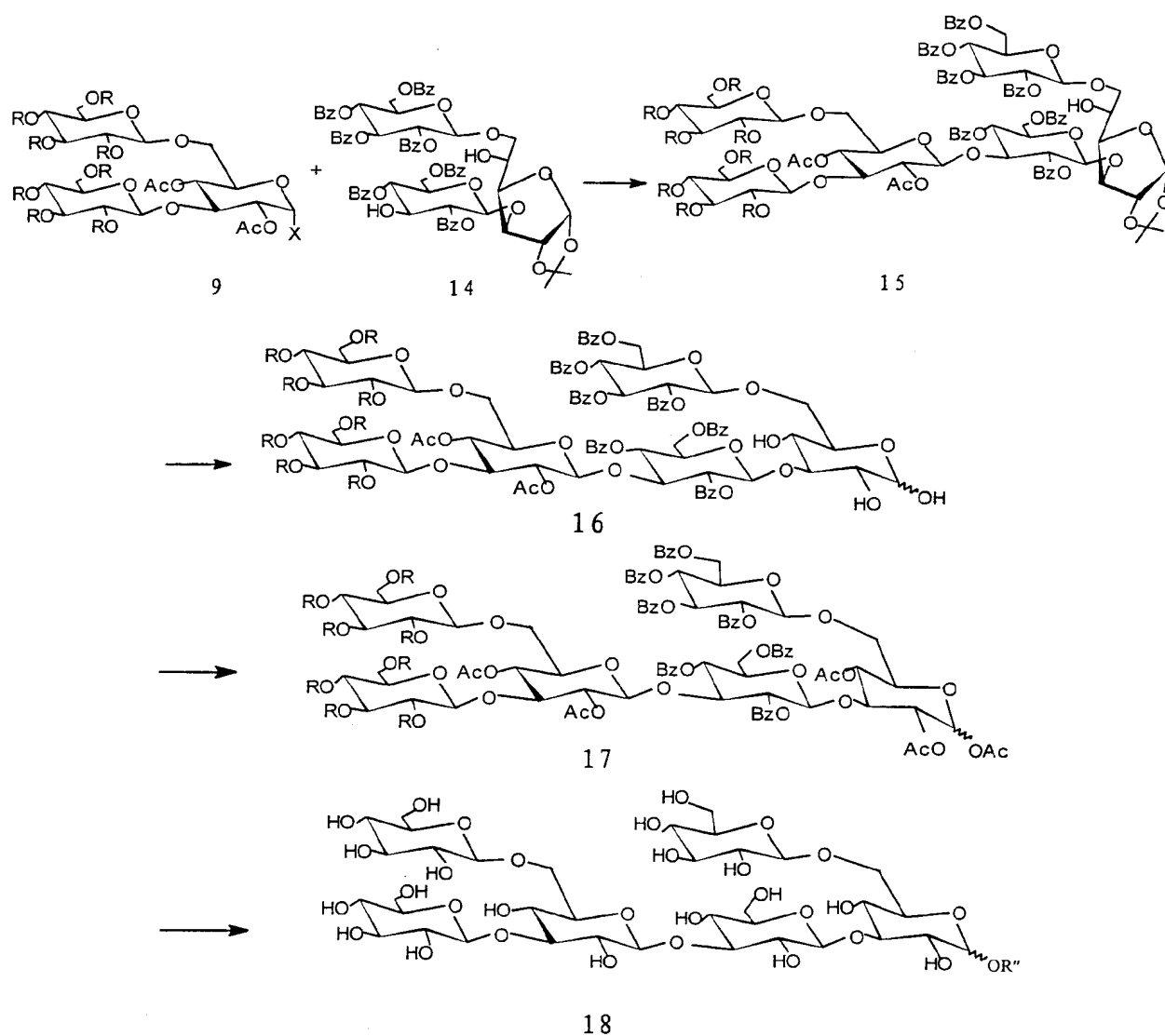
用类似的方法合成 3 位为游离羟基的葡萄糖的 3 糖受体，即用 3-O-非苯甲酰基-2, 4, 6-三-O-苯甲酰基- $\alpha$ -D-葡萄糖的糖基供体 10，使其与双糖受体 2 在路易斯酸催化下，室温搅拌下偶联得到相应的 3 糖 11，水解掉异丙叉基得到双糖 12，使其与 1 偶联得到 3 糖 13，选择性地水解掉 3 位的非苯甲酰基，即得到 3 糖受体 14，如下图所示：



R 为  $\text{CH}_3\text{CO}$ 、 $\text{ClCH}_2\text{CO}-$ 、烯丙基、Bn-、 $\text{MeOBn}-$ 等, X 为 Br 或 Cl 或  $\text{CCl}_3\text{C}(\text{NH})-$ 。

6 糖的制备:

将等摩尔比的 3 糖供体 9 与 3 糖受体 14 在路易斯酸催化下, 室温搅拌下偶联, 得到部分保护的 6 糖 15, 水解掉异丙叉基同时扩环得到 16, 将 16 乙酰化, 得到 17, 然后用砵脱掉所有酰基, 即得到端基为羟基的 6 糖 18。或将 17 选择性脱掉 1 位乙酰基, 然后与  $\text{CH}_3\text{CN}$  在碱 (DBU) 催化下反应, 得到 6 糖的三氯乙酰亚胺酯, 使该亚胺酯与  $\text{C}_{1-12}$  烷基醇偶联, 再脱掉保护基, 即得到式 18 的 6 糖的  $\text{C}_{1-12}$  烷基苷。如下图所示:

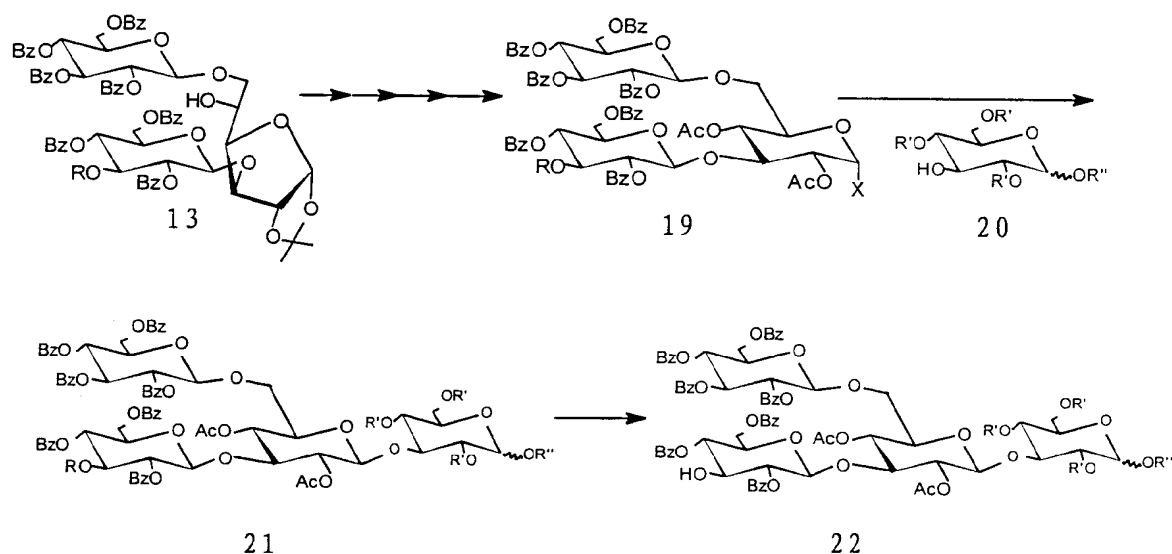




式中：R 为  $\text{CH}_3\text{CO}-$  或  $\text{PhCO}-$ ，X 为 Br 或 Cl 或  $\text{CCl}_3\text{C}(=\text{NH})\text{O}-$ 。

$\text{R}''$  为氢或  $\text{C}_{1-12}$  烷基。

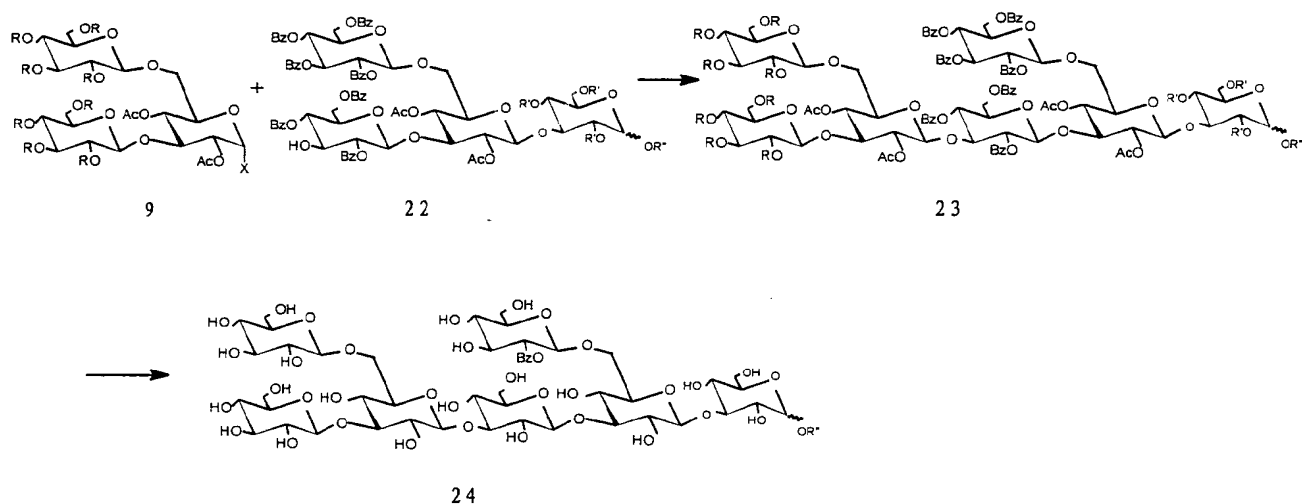
4 糖受体的制备：4 糖受体用类似于制备 3 糖受体 14 的方法制备，可采用各种方法，这里只例举一种，即将 3 糖 13 水解、扩环、活化，得到另一个 3 糖供体 19，使其与三位为游离羟基的单糖 20 偶联即得到 4 糖 21，将其三位脱保护，即得到 4 糖受体 22：



式中：R 为  $\text{ClCH}_2\text{CO}-$ 、 $\text{CH}_3\text{CO}-$ 、烯丙基-、Bn- 或  $\text{MeOC}_6\text{H}_4\text{CH}_2-$  等， $\text{R}'$  为  $\text{CH}_3\text{CO}-$  或  $\text{PhCO}-$ ， $\text{R}''$  为氢或  $\text{C}_{1-12}$  烷基；

7 糖的制备：

将 3 糖供体 9 与 4 糖受体 22 偶联，得到保护的 7 糖 23，再去保护即得到所需要的 7 糖 24：



式中：R 为烯丙基、Bn-、MeOBn-、CH<sub>3</sub>CO-或氯乙酰基，

R' 为 CH<sub>3</sub>CO-或 PhCO-，X 为 Br、Cl 或三氯乙酰亚氨基，

R'' 为氢或 C<sub>1-12</sub> 烷基。

用类似的方法，可以合成更大的寡糖如 9 糖、10 糖、12 糖、14 糖等。

所述的糖基供体制备中，R 基为乙酰基或苯甲酰基，X 为溴、氯或三氯乙酰亚胺酯。

所述的糖基受体制备中，R 基为乙酰基，氯乙酰基，烯丙基，苄基或取代的苄基等，X 为溴、氯或三氯乙腈。

所述的保护的 6 糖、7 糖中，R 基为乙酰基或苯甲酰基。

所述的 4 糖受体末端基及 7 糖末端基为 α 或 β 连接，非糖体部分为烷基或芳基。

所述的路易斯酸为银盐如碳酸银、三氟甲磺酸银，或为三氟化硼，或为三氟甲磺酸三甲基硅酯。

另外，本发明还涉及一种可增强免疫力、抗肿瘤和治疗癌症的药物组合物，其含有治疗有效量的下式[I]的寡糖，



式中[R]<sub>n</sub>为所述寡糖的主链，R为糖基，n为3-14的整数；

(R<sub>1</sub>)<sub>m</sub>为所述寡糖的侧链，R<sub>1</sub>为糖基，m为0-4的整数；

并且，R和R<sub>1</sub>可为相同或不同的糖基；

R<sub>2</sub>和R<sub>3</sub>为端基，它们可相同或不同，其独自表示羟基或C<sub>1-12</sub>烷氧基；

其中所述的主链糖基R为1→3β或1→4β连接；

所述的侧链糖基R<sub>1</sub>与主链糖基R的连接为1→6β或1→6α连接，

和药物上可接受的载体。

按照本发明所述的药物组合物，其中式[I]中的主链糖基R优选为1→3β连接；所述的主链R可为葡萄糖基或甘露糖基，优选的是，所述主链R，或主链R和侧链R<sub>1</sub>均为葡萄糖。

所述端基R<sub>2</sub>或R<sub>3</sub>优选为羟基、甲氧基、丙氧基、辛氧基或月桂氧基。

按照本发明所述的药物组合物，其中作为活性组分的寡糖优选使用4糖、5糖、6糖或7糖，且所述的四糖、五糖或六糖均为葡萄糖。

根据本发明的药物组合物，其中所述的药物上可接受的载体可为水、氯化钠生理盐水、淀粉或葡萄糖。

所述药物组合物的给药剂量可为每公斤老鼠1-10mg。

本发明所述的含寡糖的药物组合物可与目前所使用的毒性较大的化疗药物环磷酰胺并用，在此有显著的减毒增效作用。

本发明所述的药物组合物的制备方法比较简单，将作为活性组分的寡糖与药物上可接受的载体混合即可。

所述的寡糖在使用时可以注射或口服（单独用或与其它物质合用）的形式给药。

同时，本发明还进一步涉及所述的寡糖在制备增强免疫力、抗肿瘤和治疗癌症的药物或作为保健品中的应用。

本发明所述的寡糖可产生下述的有益效果：

1. 所述的寡糖对健康人外周血单核细胞IL-2和TNF-α的基因表达水平和活性有显著影响，在0.5毫克/升-15毫克/升的浓度范围内，随浓度增加

该基因表达水平及活性增加，诱导免疫反应。

## 2. 所述的寡糖对肿瘤具有很强的抑制作用

肿 瘤	宿 主	所述的寡糖的抗癌及抑制癌细胞转移作用的情况				肿瘤完全消退率
		寡糖剂量 (1 mg/kg × d)	途经	注射时间	寡糖肿瘤抑制率	
肉瘤180	CD-1/JCR	1×10	i.p.	1 to 10	100	10/10
	A/J	5×4	i.p.	1 to 4	96.5	9/10
	DBA/2N	5×4	i.p.	1 to 4	100	10/10
	SWM/Ms	1×10	i.p.	1 to 10	100	10/10
艾氏腹腔癌	CD-1/ICR	1×10	i.p.	1 to 10	54.7	0/5
CCM 腺癌	SWM/Ms	1×10	i.p.	1 to 10	65.3	0/10
MC.S1 纤维肉瘤	A/J	1×10	i.p.	1 to 10	100	18/18
MC.CS1 纤维肉瘤	DBA/2N	1×10	i.p.	1 to 10	76.5	2/7
MM-46 癌	C3H/HeN	5×2	i.v.	13,15	100	9/9
M-109 癌	BALB/c	25×2	i.p.	15,18	91	8/22
MC-原发瘤	DBA/2N	1×10	i.p.	1 to 10	80.5	2/5
MH,134 肝癌	C3H/HeN	1×14	i.p.	21 to 40	100	10/14
甲基胆蒽	SWM/Ms	1×10	i.p.	21 to 31	83→33%	
甲基胆蒽	DBA/2N	1×10	i.p.	14 to 24	78→37%	
腺癌 12 型	C3H/HeN	3×10	i.p.	14 to 18	79→40%	

由此可见，所述的寡糖不仅对 S180 等同种移植癌而且对同系癌，自发癌的生长也能明显抑制，并对化学致癌，病毒致癌均有预防效果。

所述的寡糖抑制肿瘤作用的特点是：对肿瘤细胞没有直接细胞毒作用，其作用依赖于宿主；有最适剂量，过量使用使抑制肿瘤作用及免疫增强作用减弱；其作用因小鼠种系不同而有显著差异。A/J, DBA/2, CD-1 等小鼠对寡糖最敏感，肿瘤可完全消失。对 C3H/He 不消失，BALB/C, CBA 中等。对敏感小鼠接种甲基胆蒽 (MC)，建立了纤维肉瘤株，以此移植于近交系小鼠后，给与寡糖后肿瘤消失。

所述的寡糖对化学致癌有强的抑制作用。接种 MC 35 周后几乎所有小鼠均发生癌，但在接种 MC 2~3 周后开始腹腔投与寡糖，致癌率约降低至 30%。这是因为接种 MC 产生的少数癌细胞由于注射寡糖增强了免疫功能而被消灭。寡糖还可使腺病毒的致癌率由 80%降低至 40%。表明寡糖不单是促进免疫排斥的物质而是真正的抗癌物质。

此外，所述的寡糖对各种细菌、病毒、寄生虫等的感染也有突出效果。

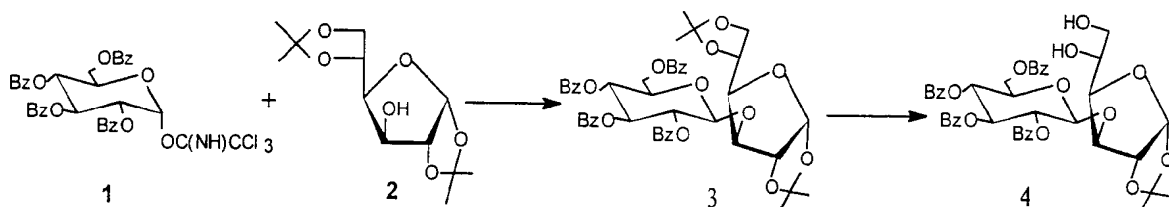
### 实现本发明的最佳方式

下面结合实施例对本发明进行详细地说明。

#### 实施例

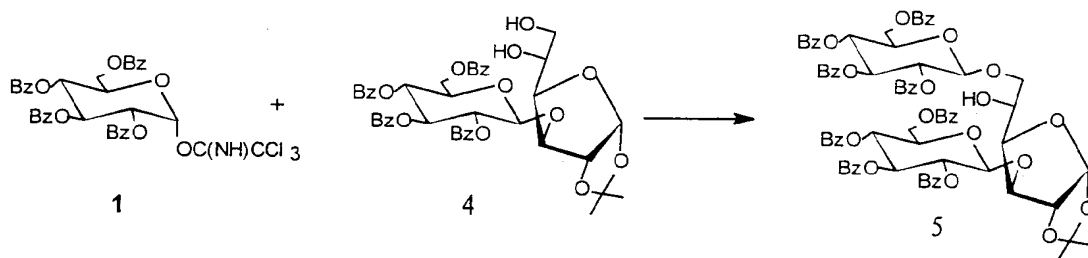
首先描述由葡萄糖组成的寡糖的制备：

#### 实施例 1：双糖 3 的制备



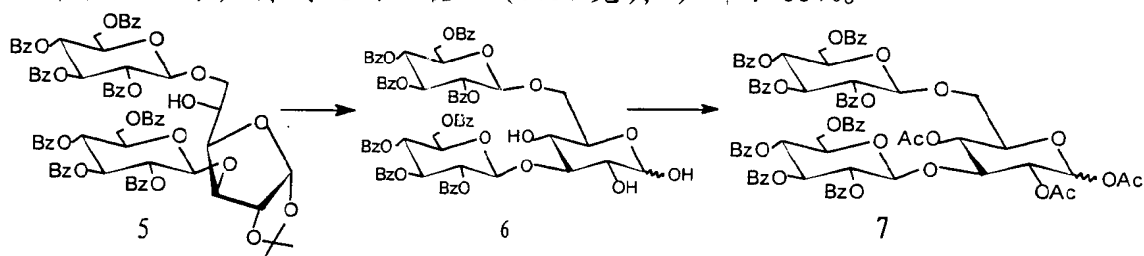
苯甲酰基葡萄糖三氯乙酰亚胺酯 1 (5.6 克, 7.56 毫摩尔) 溶于 40 毫升二氯甲烷中, 得溶液 A, 1,2: 5,6-二-O-异丙叉基葡萄糖 2 (2.8 克, 10.77 毫摩尔) 溶于 20 毫升二氯甲烷中, 得溶液 B, 将 B 与 A 混合得溶液 C, 向 C 中加入三氟甲磺酸三甲基硅酯 (TMSOTF, 0.08 毫摩尔), 在室温反应 2 小时后, 薄层色谱分析表明反应完成。将反应液以 100 毫升二氯甲烷稀释, 用 0.5% 的 HCl/CH<sub>3</sub>OH 溶液稀释并搅拌 1 小时, 选择性地水解掉 5,6-O-异丙叉基, 三乙胺中和, 减压蒸掉溶剂, 用硅胶柱层析法精制, 用乙酸乙酯/石油醚 (1/2) 作为淋洗液淋洗, 收集相应组分, 得到双糖 4 (5.43 克), 产率: 90%。

#### 实施例 2：3 糖 5 的制备：



苯甲酰基葡萄糖三氯乙酰亚胺酯 1 (3.7 克, 5.01 毫摩尔) 溶于 30 毫升二氯甲烷中, 得溶液 A, 双糖 4 (4.0 克, 5.01 毫摩尔) 溶于 30 毫升二氯甲烷, 得溶液 B, 将 B 与 A 混合得溶液 C, 在冰盐浴冷却下, 向 C 中加入 TMSOTF 0.05 毫摩尔, 然后自然恢复至室温, 在室温反应 3 小时后, 薄层色谱分析表明反应完成。将反应液以三乙胺中和, 用水洗涤, 弃去水相, 有机相在真空下抽干, 粗产物用硅胶柱层析法精制, 用乙酸乙酯/石油醚 (1/1) 作为淋洗液淋洗,

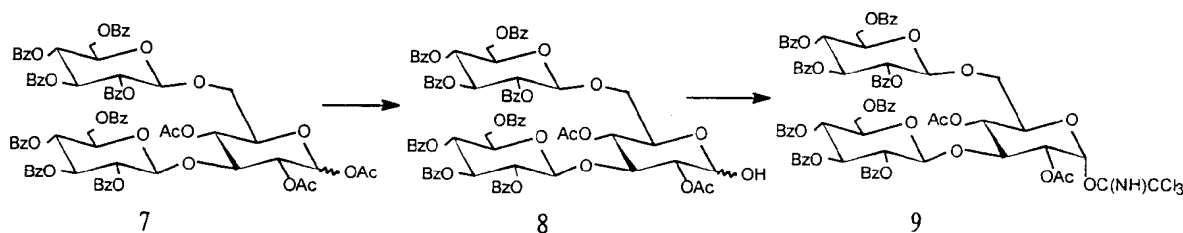
收集相应组分，得到纯的 3 糖 5 (5.86 克)，产率：85%。



实施例 3：3 糖 7 的制备：

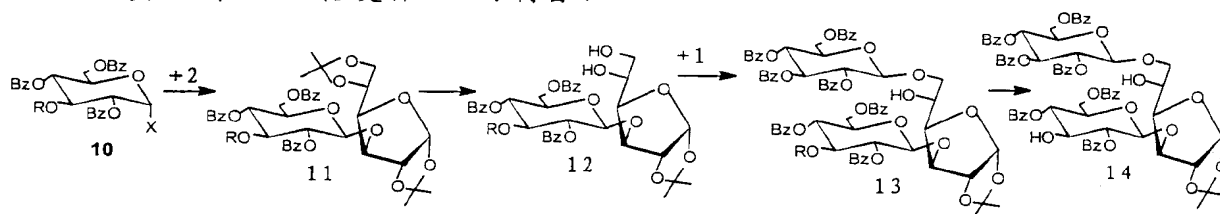
3 糖 5 (6.0 克，4.36 毫摩尔) 溶于 50 毫升 80% 乙酸水溶液中加入 10 毫升 1M  $H_2SO_4$ ，在 60℃ 搅拌下水解，用薄层色谱分析检测反应，反应完成后，将反应液在减压下蒸干，粗产物用硅胶柱层析法精制，用乙酸乙酯/石油醚 (1/1) 作为淋洗液淋洗，收集相应组分，得到纯的 3 糖 6 (5.24 克) 产率：90%，将 6 按常规方法用乙酸酐/吡啶定量乙酰化，得到全酰化的 3 糖 7。

实施例 4：3 糖供体 9 的制备：



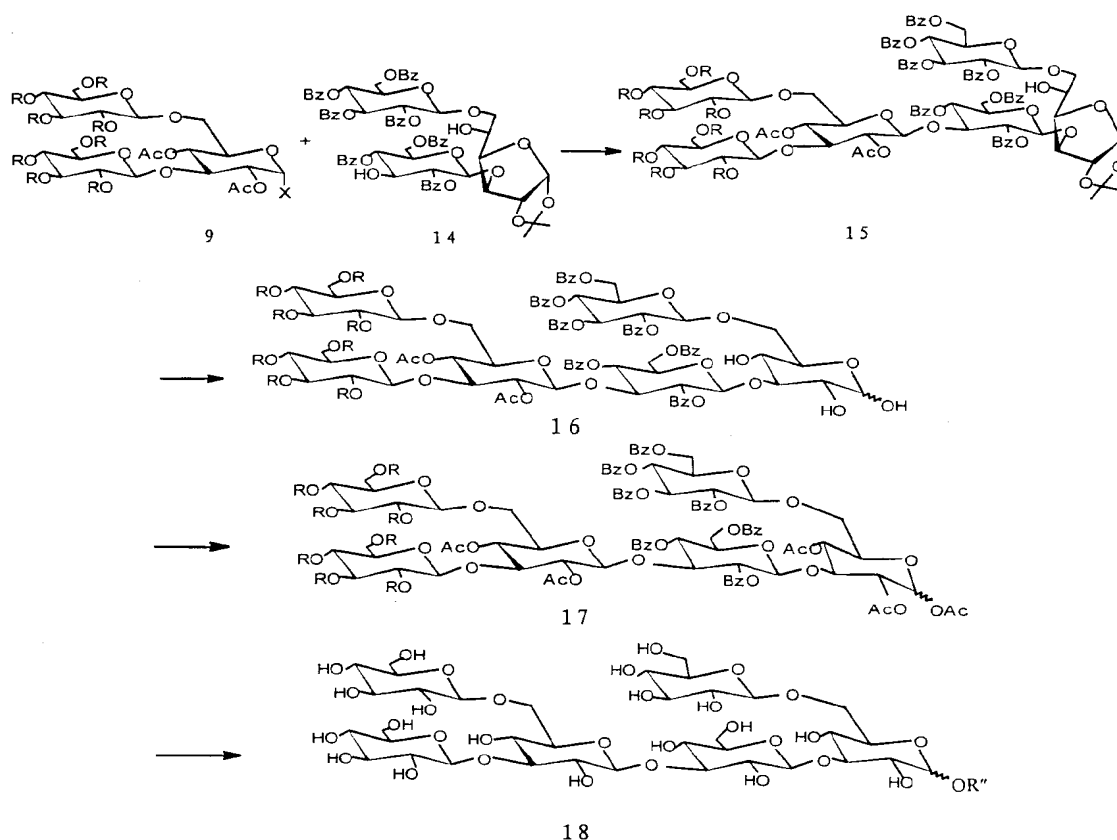
3 糖 7 (5.5 克，3.76 毫克分子) 溶于 30 毫升二甲基甲酰胺中，加入  $NH_4HCO_3$  3 克，反应在室温下进行，并用薄层色谱分析检测反应，反应完成后，减压蒸干溶剂，粗产物用硅胶柱层析法精制，用乙酸乙酯/石油醚 (1/1) 作为淋洗液淋洗，收集相应组分，得到纯的 3 糖 8 (4.8 克)，产率：90%，将 8 (6 克，4.2 毫克分子) 溶于 40 毫升二氯甲烷中，加入三氯乙腈 3 毫升，碳酸钾 3 克，室温下搅 23 小时，薄层分析表明反应完成，用常规方法进行后处理，粗产物用硅胶柱层析法精制，用乙酸乙酯/石油醚 (1/1) 作为淋洗液淋洗，收集相应组分，得到纯的 3 糖供体 9 (6.01 克)，产率：91%。

实施例 5：3 糖受体 14 的制备：



按 1 与 2 偶联的条件, 使 3-O-烯丙基-2, 4, 6-三-O-苯甲酰基- $\alpha$ -D-葡萄糖三氯乙酰亚胺酯 10 (5 克, 7.38 毫克分子) 与 1, 2: 5, 6 异丙叉基葡萄糖 2 (2.13 克 8.20 毫克分子) 偶联, 反应完成后, 将反应液以 100 毫升二氯甲烷稀释, 用 0.5% 的 HCl/CH<sub>3</sub>OH 溶液稀释并搅拌 1 小时, 选择性地水解掉 5,6-O-异丙叉基, 三乙胺中和, 减压蒸掉溶剂, 用硅胶柱层析法精制, 用乙酸乙酯/石油醚 (1/1) 作为淋洗液淋洗, 收集相应组分, 得到双糖 12 (4.89 克), 产率 90%。按 1 与 2 偶联的条件, 再使 1 与双糖受体 12 偶联, 得到 3 糖 13 (5.67 克, 65%), 将 13 溶于 100 毫升干燥的甲醇溶液中, 加入氯化钡 0.5 克, 在室温、搅拌下反应, 并以薄层分析检测, 当检测表明烯丙基已被选择性移除时, 过滤, 减压下蒸干溶剂, 粗产物用硅胶柱层析法精制, 用乙酸乙酯/石油醚 (1/1) 作为淋洗液淋洗, 收集相应组分, 得到 3 糖 14 (4.94 克), 产率: 90%。

#### 实施例 6: 6 糖 18 的制备

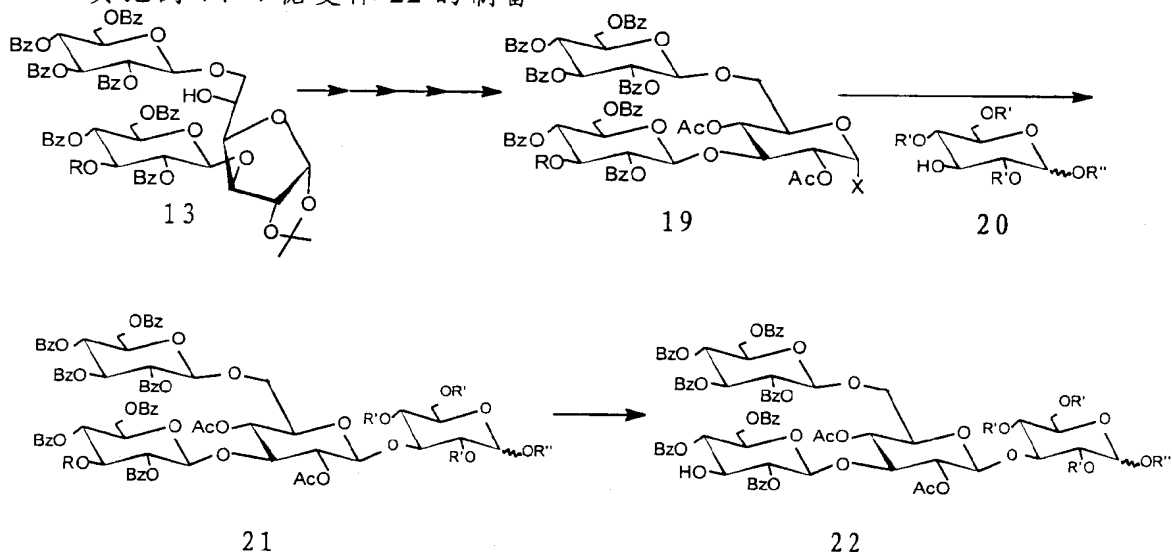


式中:  $R = \text{CH}_3\text{CO}-$ 、 $\text{ClCH}_2\text{CO}-$ 、烯丙基、Bn-或  $\text{MeOBn}-$ ,  $X = \text{Br}$ 、 $\text{Cl}$  或  $\text{CCl}_3\text{C}(\text{NH})-$ ,

$R'' = \text{氢}$ 、甲基、丙基、辛基或月桂基。

将 3 糖供体 **9** (3 克, 1.92 毫克分子) 与 3 糖受体 **14** (2.44 克, 1.92 毫克分子) 溶于 40 毫升二氯甲烷中, 在冰盐浴冷却下加入 TMSOTf (0.02 毫摩尔), 然后自然恢复至室温, 在氮气保护、室温、搅拌下进行反应, 用薄层分析检测, 反应完成后, 用常规方法后处理, 粗产物用硅胶柱层析法精制, 用乙酸乙酯/石油醚 (2/1) 作为淋洗液淋洗, 收集相应组分, 得到 6 糖 **15** (4.11 克), 产率 80%。将 **15** (3.5 克, 1.31 毫摩尔) 溶于 40 毫升 80% 乙酸水溶液中, 在 60℃ 搅拌下水解, 用薄层色谱分析检测反应, 反应完成后, 将反应液在减压下蒸干, 粗产物用硅胶柱层析法精制, 用乙酸乙酯/石油醚 (2/1) 作为淋洗液淋洗, 收集相应组分, 将其按常规方法用乙酸酐/吡啶定量乙酰化, 得到全酰化的 6 糖 **17** (3.25 克)。产率 90%。将 **17** (2 克, 0.72 毫克分子) 溶于 40 毫升甲醇中, 用氨饱和, 室温过夜, 用薄层分析检测反应, 反应完成后, 减压蒸干溶剂, 用二氯甲烷洗涤, 弃掉洗涤液, 得到粉末状产物端基为羟基的式 **18** (681 毫克), 产率 95%。或按照制备 3 糖的 7 至 9 的方法, 将 **17** (2 克, 0.72 毫克分子) 转化为 6 糖的三氯乙酰亚胺酯 1.92 克, 产率 82%。将该亚胺酯溶于 10ml 二氯甲烷中, 加入月桂醇 (186 毫克, 1 毫摩尔) (或加入甲醇、丙醇或辛醇), 在搅拌下加入 TMSOTf 5 微升, 反应 2 小时后完成, 用常规方法处理反应液, 得到全保护的 6 糖月桂基苷 (或其甲基苷、丙基苷或辛基苷)。然后将其溶于用氨饱和的 15ml 甲醇中, 于室温下反应 6 天。蒸干溶剂, 所得残余物用乙酸乙酯洗涤, 得到乳白色产物式 **18** 的 6 糖月桂基苷 575mg (或得到其甲基苷、丙基苷或辛基苷), 几步反应总产率为 49%。

#### 实施例 7: 4 糖受体 **22** 的制备



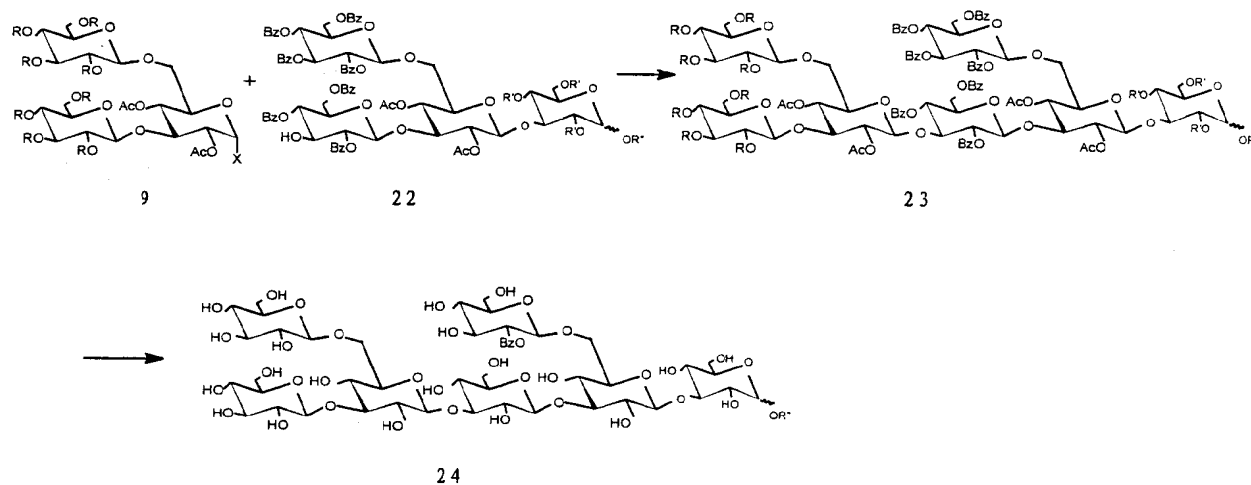


$R' = \text{CH}_3\text{CO}-$ ,  $R'' = \text{氢、Me}(\beta)、\text{丙基、辛基或月桂基}$ ,

按 3 糖 5 转化为 3 糖供体 9 的条件, 将 3 糖 13 转化为 3 糖供体 19, 然后按 1 与 2 偶联的条件, 使 19 (3.25 克, 2.16 毫克分子) 与单糖受体 20 (0.80 克, 2.50 毫克分子) (可选用式中  $R''$  分别为氢、甲基、丙基、辛基或月桂基的单糖) 偶联, 得到 4 糖 21 (2.50 克, 产率 70%)。脱掉 3 位保护基得到 4 糖 22。

#### 实施例 8: 7 糖 24 的制备

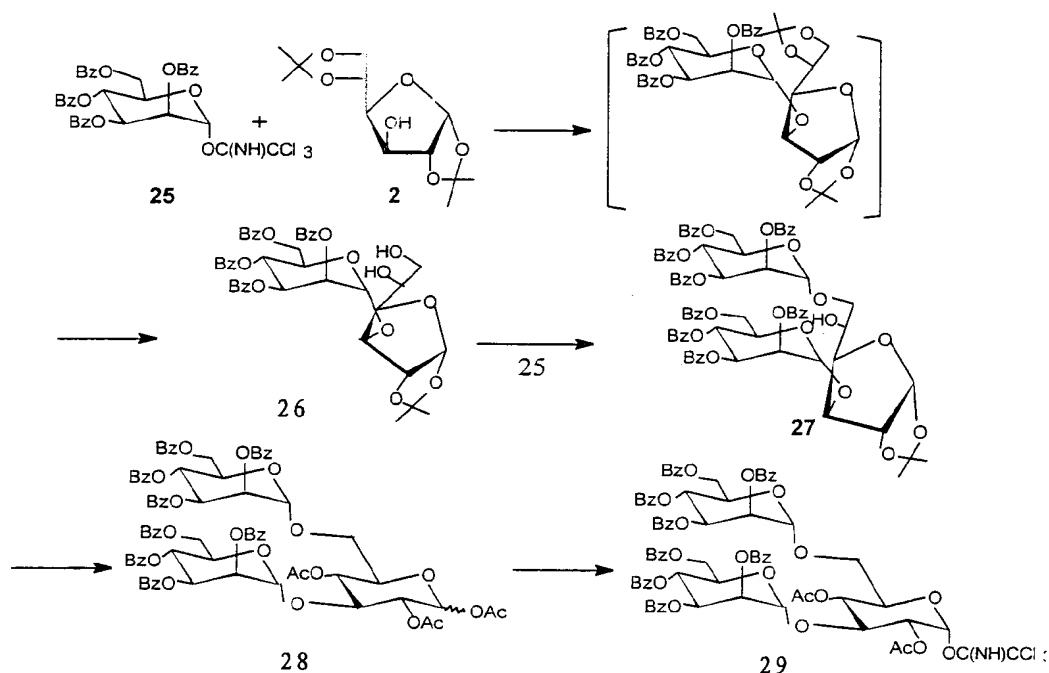
按 13 到 14 的过程制备 4 糖受体 22。按 9 和 14 偶联制备 6 糖 18 的方法, 由 9 (2.35 克, 1.50 毫克分子) 和 22 (2.40 克, 1.45 毫克分子) 偶联, 得到 7 糖 23 (3.10 克, 产率 70%)。脱保护基得到香菇多糖重复单元 7 糖 24 (包括式中  $R''$  为氢、甲基、丙基、辛基或月桂基的 7 糖)。



式中:  $R' = \text{CH}_3\text{CO}-$ ,  $X = \text{Br、Cl 或 } \text{CCl}_3\text{C}(\text{NH})-$ ,  $R'' = \text{氢、甲基、丙基、辛基或月桂基}$ 。

下面描述由不同糖组成的寡糖的制备:

如:



#### 实施例 9：双糖 26 的制备：

苯甲酰化的甘露糖三氯乙酰亚胺酯 25 (741 毫克, 1 毫摩尔) 溶于 10 毫升二氯甲烷中, 得溶液 A, 1,2:5,6-二-O-异丙叉基葡萄糖 2 (260 毫克, 1 毫摩尔) 溶于 10 毫升二氯甲烷中, 得溶液 B, 将 B 与 A 混合得溶液 C, 向 C 中加入  $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$  (20 微升, 0.16 毫摩尔), 在室温反应四小时后, 薄层色谱分析表明反应完成。将反应液以 10 毫升二氯甲烷稀释, 用 1N 盐酸洗涤, 弃去水相, 有机相在真空下抽干, 得到的粗产物用硅胶柱层析法精制, 用乙酸乙酯/石油醚 (1/3) 作为淋洗液淋洗, 收集相应组分, 得到纯的双糖 26 720 毫克, 产率: 90%; 熔点: 110-113°C, 比旋光度  $[\alpha]_D +18^\circ$ 。

#### 实施例 10：3 糖 27 的制备：

苯甲酰化的甘露糖三氯乙酰亚胺酯 25 (741 毫克, 1 毫摩尔) 溶于 10 毫升二氯甲烷中, 得溶液 A, 双糖 26 (798 毫克, 1 毫摩尔) 溶于 10 毫升二氯甲烷中, 得溶液 B, 将 B 与 A 混合得溶液 C, 向 C 中加入  $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$  (20 微升, 0.16 毫摩尔), 在室温反应四小时后, 薄层色谱分析表明反应完成。用三乙胺将反应物中和至中性, 然后在真空下抽干, 得到的粗产物用硅胶柱层析法精制, 用乙酸乙酯/石油醚 (1/3) 作为淋洗液淋洗, 收集相应组分, 得到纯的 3 糖 27 970 毫克, 产率: 80%; 熔点: 120-123°C, 比旋光度  $[\alpha]_D +28^\circ$ 。

#### 实施例 11：3 糖 28 的制备：

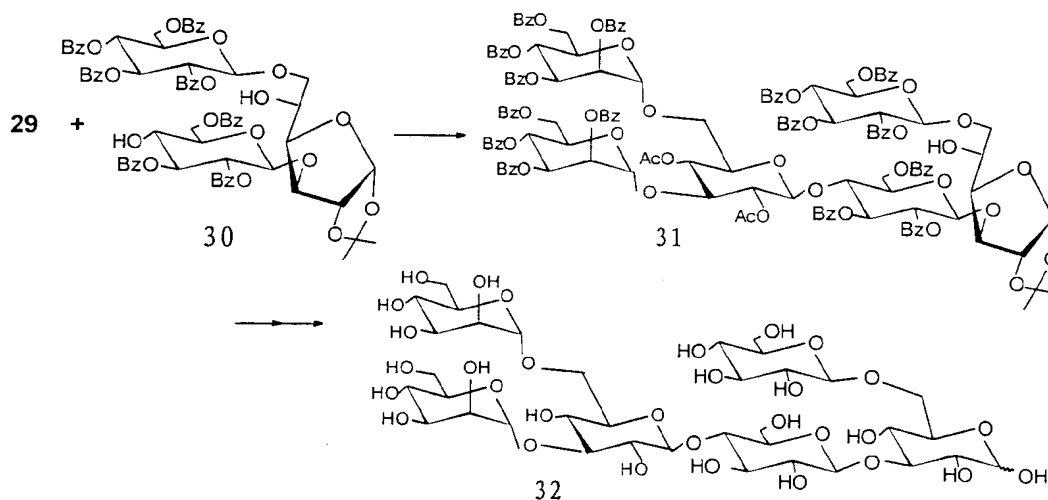
将 3 糖 27 (1216 毫克, 1 毫摩尔) 溶于 10 毫升 90% 三氟乙酸中, 在搅拌下、室温反应一小时, 将溶液在真空下抽干, 将所得浆状物按常规方法用乙酸酐-吡啶定量乙酰化, 得到 3 糖 28, 1042 毫克, 主要由  $\alpha$  异构体组成, 产率: 71%。熔点: 137-140°C, 比旋光度  $[\alpha]_D -5.1^\circ$ 。

实施例 12: 3 糖供体 29 的制备:

将 3 糖 27 (731 毫克, 0.5 毫摩尔) 与碳酸钾 (69 毫克, 0.5 毫摩尔) 溶于 10 毫升 DMF 中, 在搅拌下、室温反应十二小时, 反应物用水稀释, 然后用二氯甲烷萃取, 先后用 1N 盐酸、水、碳酸氢钠溶液洗涤有机相, 干燥并浓缩有机相, 得到的浆状物溶于 20 毫升二氯甲烷, 然后加三氯乙腈 (0.1 毫升, 1 毫克分子), 再加 DBU 14 微升, 反应混合物在搅拌下、室温反应二小时后, 将反应混合物在真空下抽干, 用硅胶柱层析法精制, 用乙酸乙酯/石油醚 (1/2) 作为淋洗液淋洗, 收集相应组分, 得到 3 糖 29, 其为 669 毫克, 产率: 90%。熔点: 123-126°C, 比旋光度  $[\alpha]_D +1.5^\circ$ 。

实施例 13: 6 糖 32 的制备:

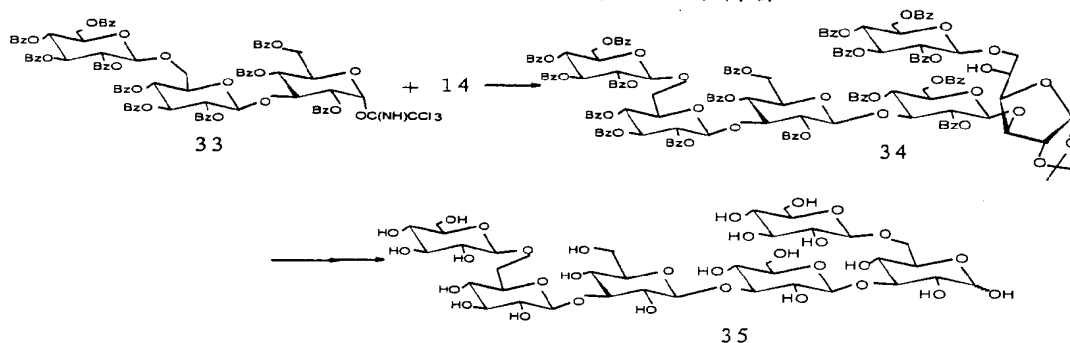
3 糖供体 29 与 3 糖受体 30 偶联制备 6 糖 32:



用制备 3 糖受体 14 的类似的方法制备出 3 糖受体 30, 使 30 (2.44 克, 1.92 毫克分子) 与 3 糖供体 29 (3 克, 1.92 毫克分子) 溶于 40 毫升二氯甲烷中, 在冰盐浴冷却下加入 TMSOTf (0.02 毫克分子), 然后自然恢复至室温, 在氮气保护、室温、搅拌下进行反应, 用薄层分析检测, 反应完成后, 用常规方法进行后处理, 粗产物用硅胶柱层析法精制, 用乙酸乙酯/石油醚 (2/1) 作为淋洗液, 收集相应组分, 得到 6 糖 31, 其为 4.02 克, 产率 78%。将 31 (3.2

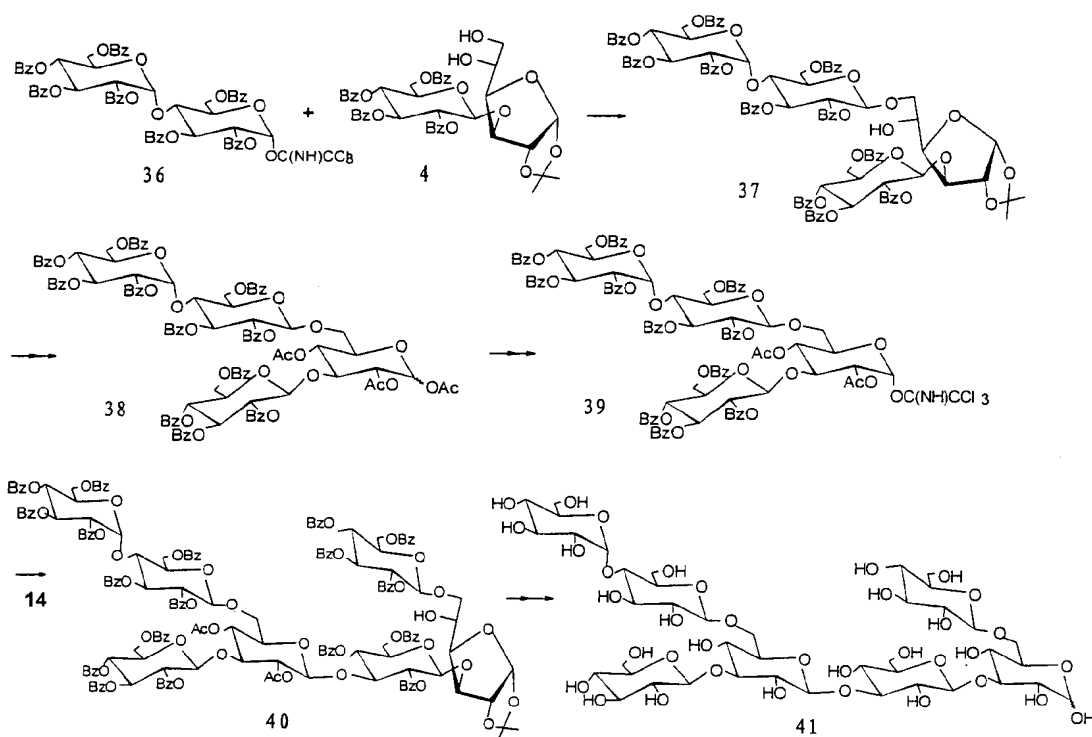
克, 1.16 毫克分子) 溶于 10 毫升 90% 三氟乙酸中, 在搅拌下、室温反应一小时, 将溶液在真空下抽干, 将所得浆状物按常规方法用乙酸酐-吡啶定量乙酰化, 得到全酰化的 6 糖, 将全酰化的 6 糖溶于 40 毫升甲醇中, 用氨饱和, 室温过夜, 用薄层分析检测, 反应完成后, 减压蒸干溶剂, 用二氯甲烷洗涤, 弃掉洗涤液, 得到粉末状产物 **32**, 其为 650 毫克, 产率 90%。

实施例 14: 侧链位置变化的 6 糖 **35** 的制备:



三糖供体 **33** 用选择性糖基化的方法 (王为 孔繁祚 J. Org. Chem., 64 (1999) 5091-5095. 王为 孔繁祚 Angew. Chem. Int. Ed. 38 (1999) 1247-1250. ) 制备, 使 **33** (2.7 克, 1.72 毫克分子) 与 3 糖供体 **14** (2.2 克, 1.72 毫克分子) 溶于 40 毫升二氯甲烷中, 在冰盐浴冷却下加入 TMSOTf (0.018 毫克分子), 然后自然恢复至室温, 在氮气保护、室温、搅拌下进行反应, 用薄层分析检测, 反应完成后, 用常规方法进行后处理, 粗产物用硅胶柱层析法精制, 用乙酸乙酯/石油醚 (2/1) 作为淋洗液, 收集相应组分, 得到 6 糖 **34**, 其为 3.6 克, 产率 78%。将 **34** (3.2 克, 1.16 毫克分子) 溶于 10 毫升 90% 三氟乙酸中, 在搅拌下、室温反应一小时, 将溶液在真空下抽干, 将所得浆状物按常规方法用乙酸酐-吡啶定量乙酰化, 得到全酰化的 6 糖, 将全酰化的 6 糖溶于 40 毫升甲醇中, 用氨饱和, 室温过夜, 用薄层分析检测, 反应完成后, 减压蒸干溶剂, 用二氯甲烷洗涤, 弃掉洗涤液, 得到粉末状产物 **35**, 其为 650 毫克, 产率 90%。

实施例 15: 侧链有双糖的寡糖 **41** 的制备:



首先使苯甲酰化的麦芽糖三氯乙晴亚胺酯 **36** (2.43 克, 2 毫克分子) 与双糖受体 **4** (1.6 克, 2 毫克分子) 溶于 40 毫升二氯甲烷中, 在冰盐浴冷却下加入 TMSOTf (0.02 毫克分子), 然后自然恢复至室温, 在氮气保护、室温、搅拌下进行反应, 用薄层分析检测, 反应完成后, 用常规方法进行后处理, 粗产物用硅胶柱层析法精制, 用乙酸乙酯/石油醚 (2/1) 作为淋洗液, 收集相应组分, 得到 4 糖 **37**, 其为 2.82 克, 产率 76%。将 **37** (2.2 克, 1.16 毫克分子) 溶于 10 毫升 90% 三氟乙酸中, 在搅拌下、室温反应一小时, 将溶液在真空下抽干, 将所得浆状物按常规方法用乙酸酐-吡啶定量乙酰化, 得到全酰化的 4 糖 **38**, 其为 1.82 克, 产率 81%; 将 **38** (1.8 克, 0.92 毫克分子) 与碳酸钾 (126 毫克, 0.92 毫克分子) 溶于 15 毫升 DMF 中, 在搅拌下、室温反应十二小时, 反应物用水稀释, 然后用二氯甲烷萃取, 先后用 1N 盐酸、水、碳酸氢钠溶液洗涤有机相, 干燥并浓缩有机相, 得到的浆状物溶于 20 毫升二氯甲烷, 然后加三氯乙晴 (0.2 毫升, 2 毫克分子), 再加 DBU 25 微升, 反应混合物在搅拌下、室温反应二小时后, 将反应混合物在真空下抽干, 用硅胶柱层析法精制, 用乙酸乙酯/石油醚 (1/2) 作为淋洗液淋洗, 收集相应组分, 得到 4 糖供体 **39**, 其为 967 毫克, 产率: 82%。熔点: 112-116°C, 比旋光度  $[\alpha]_D +11.2^\circ$ 。

使 39 (2.14 克, 1.5 毫克分子) 与 3 糖受体 14 (1.85 克, 1.5 毫克分子) 溶于 40 毫升二氯甲烷中, 在冰盐浴冷却下加入 TMSOTf (0.02 毫克分子), 然后自然恢复至室温, 在氮气保护、室温、搅拌下进行反应, 用薄层分析检测, 反应完成后, 用常规方法进行后处理, 粗产物用硅胶柱层析法精制, 用乙酸乙酯/石油醚 (2/1) 作为淋洗液, 收集相应组分, 得到 7 糖 40, 其为 3.12 克, 产率 80%。将 40 (3.12 克, 1.19 毫克分子) 溶于 10 毫升 90%三氟乙酸中, 在搅拌下、室温反应一小时, 将溶液在真空下抽干, 将所得浆状物按常规方法用乙酸酐-吡啶定量乙酰化, 得到全酰化的 7 糖, 将全酰化的 7 糖溶于 40 毫升甲醇中, 用氨饱和, 室温过夜, 用薄层分析检测, 反应完成后, 减压蒸干溶剂, 用二氯甲烷洗涤, 弃掉洗涤液, 得到粉末状产物 41, 其为 1260 毫克, 产率 92%。

#### 药物组合物实施例

##### 配方实施例 1

将 1000mg、5000mg 和 10000mg 的式 18 的 6 糖分别溶于 1000mc 的 1% NaCl 的生理盐水中, 分别配制成浓度为 1mg 6 糖/ml 盐水、5mg 6 糖/ml 盐和 10mg 6 糖/ml 盐水的注射用药物, 此注射药物通常在使用时配制。其中所述的 6 糖, 可分别使用式中 R'' 为氢、甲基、丙基或月桂基的 6 糖。

##### 配方实施例 2

使用与上述配方实施例 1 相同的方法, 不同之处在于所用的寡糖为式 24 的 7 糖, 可分别使用式中 R'' 为 H、甲基、丙基、辛基或月桂基的 7 糖。

##### 配方实施例 3

取 99.5g 淀粉、99.5g 葡萄糖和 1g 寡糖, 在此所用的寡糖为式 18 的 6 糖, 将上述物质均匀混合, 制成片剂, 在此可制成 1000 片, 每片为 200mg, 内含有 1mg 6 糖, 可分别使用式中 R'' 为氢、甲基、丙基或月桂基的 6 糖。

##### 配方实施例 4

使用与上述配方实施例 3 相同的方法, 不同之处在于所用的寡糖为式 24 的 7 糖, 可分别使用式中 R'' 为氢、甲基、丙基、辛基或月桂基的 7 糖。

#### 工业应用性

本发明所述的寡糖不仅对 S180 等同种移植癌而且对同系癌, 自发癌的生长也具有明显地抑制作用, 并对化学致癌, 病毒致癌均有预防效果。

与化疗药物环磷酰胺并用，有显著的减毒增效作用。

此外，所述的寡糖对各种细菌、病毒、寄生虫等的感染也有突出效果。

因此，本发明所述的寡糖能在制备增强免疫力、抗肿瘤和治疗癌症的药物中和保健品中应用。

# 权利要求

1.一种寡糖，  
其特征在于，它具有下述式[I]：



式中：[R]<sub>n</sub>为所述寡糖的主链，R为糖基，n为3-14的整数；

(R<sub>1</sub>)<sub>m</sub>为所述寡糖的侧链，R<sub>1</sub>为糖基，m为0-4的整数；并且，R和R<sub>1</sub>可为相同或不同的糖基；

R<sub>2</sub>和R<sub>3</sub>为端基，它们可相同或不同，其独自表示羟基、C<sub>1-12</sub>烷氧基；

所述的主链糖基R为1→3β或1→4β连接，所述的侧链糖基R<sub>1</sub>与主链糖基R的连接为1→6β或1→6α连接。

2.权利要求1所述的寡糖，  
其特征在于，所述的主链糖基R为1→3β连接。

3.权利要求1所述的寡糖，  
其特征在于，所述的侧链R<sub>1</sub>可在主链的糖基上紧密并排排列。

4.权利要求1所述的寡糖，  
其特征在于，所述的侧链R<sub>1</sub>可在主链的糖基上由一个或多个主链糖基隔开排列。

5.权利要求1所述的寡糖，  
其特征在于，所述的主链R为葡萄糖基或甘露糖基。

6.权利要求5所述的寡糖，  
其特征在于，所述的主链R均为葡萄糖基。

7.权利要求1所述的寡糖，  
其特征在于，所述的主链R和侧链R<sub>1</sub>均为葡萄糖基。

8.权利要求1所述的寡糖，  
其特征在于，所述的侧链R<sub>1</sub>为单糖或多糖。

9.权利要求1所述的寡糖，  
其特征在于，所述的端基R<sub>2</sub>或R<sub>3</sub>为羟基、甲氧基、丙氧基、辛氧基或月桂氧



基。

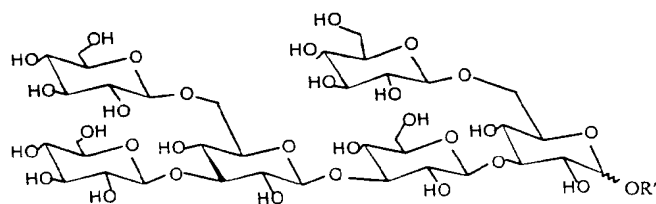
10. 权利要求 1 所述的寡糖，  
其特征在于，所述的寡糖为 4 糖、5 糖、6 糖或 7 糖的寡糖。

11. 权利要求 10 所述的寡糖，  
其特征在于，所述的 4 糖为  $\alpha$ -Man-1 $\rightarrow$ 3- $\beta$ -Glu-1 $\rightarrow$ 3- $\beta$ -Glu-1 $\rightarrow$ 3- $\alpha$ 、 $\beta$ -Glu，其中，Glu 为葡萄糖，Man 为甘露糖。

12. 权利要求 10 所述的寡糖，  
其特征在于，所述的主链为 1 $\rightarrow$ 3 $\beta$  连接或 1 $\rightarrow$ 4 $\beta$  连接，  
 $\beta$ -Glu-1 $\rightarrow$ 3- $\beta$ -Glu-1 $\rightarrow$ 3- $\beta$ -Glu-1 $\rightarrow$ 3- $\beta$ -Glu-1 $\rightarrow$ 3-Glu  
或  $\alpha$ -Man-1 $\rightarrow$ 3- $\beta$ -Glu-1 $\rightarrow$ 4- $\beta$ -Glu-1 $\rightarrow$ 3- $\beta$ -Glu-1 $\rightarrow$ 3-Glu  
其中：Glu 为葡萄糖，Man 为甘露糖。

13. 权利要求 10 所述的寡糖，  
其特征在于，所述的 4 糖、5 糖、6 糖或 7 糖中的糖均为葡萄糖。

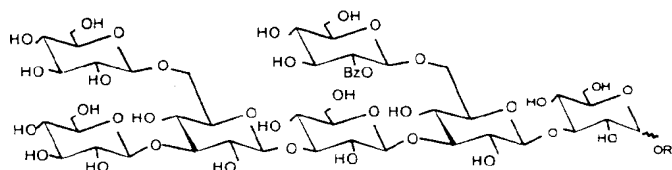
14. 权利要求 13 所述的寡糖，  
其特征在于，所述的 6 糖具有下式 18：



18

式中：R'' 为氢、甲基、丙基、辛基或月桂基。

15. 权利要求 13 所述的寡糖，  
其特征在于，所述的 7 糖具有下式 24：



24

式中：R'' 为氢、甲基、丙基、辛基或月桂基。

16.一种用于制备寡糖的方法，  
其特征在于，该寡糖具有下式[I]



式中： $[\text{R}]_n$ 为所述寡糖的主链，R为糖基，n为3-14的整数；

$(\text{R}_1)_m$ 为所述寡糖的侧链， $\text{R}_1$ 为糖基，m为0-4的整数；

并且，R和 $\text{R}_1$ 可为相同或不同的糖基；

$\text{R}_2$ 和 $\text{R}_3$ 为端基，它们可相同或不同，其独自表示羟基、 $\text{C}_{1-12}$ 烷氧基；

其中所述的主链糖基R为1 $\rightarrow$ 3 $\beta$ 或1 $\rightarrow$ 4 $\beta$ 连接，所述的侧链糖基 $\text{R}_1$ 与主链糖基R的连接为1 $\rightarrow$ 6 $\beta$ 或1 $\rightarrow$ 6 $\alpha$ 连接；

该方法包括：将具有1个糖基的酰基糖的三氯乙酰亚胺酯或卤化物作为糖基供体，以1,2:5,6-二-O-异丙叉基保护的葡萄糖作为糖基受体，将所述的糖基供体与糖基受体分别溶于作为有机溶剂的卤代烷烃中，将二者混合，在路易斯酸催化剂存在下，制备出1 $\rightarrow$ 3 $\beta$ 连接的双糖，选择性地水解掉5,6-O-异丙叉基，得到5,6位为游离羟基的双糖，再使用上述的作为糖基供体的具有一个糖基的酰基糖与作为糖基受体的双糖，在路易斯酸催化剂存在下进行偶联反应得到3糖，将3糖在酸性条件下水解得扩环后的酰基糖，接着进行酰化反应得酰化的酰基糖，然后用碱脱掉酰基，即可得到游离的3糖，用上述类似的方法，可以选择所需的糖基供体和糖基受体在路易斯酸催化剂存在下进行偶联反应，再脱保护可得到式[I]所述的寡糖。

17.权利要求16所述的方法，

其特征在于，所述的卤代烷烃为四氯甲烷、二氯甲烷、三氯甲烷或二氯乙烷。

18.权利要求16所述的方法，

其特征在于，所述的路易斯酸为银盐、三氟化硼或三氟甲磺酸三甲基硅酯。

19.权利要求18所述的方法，

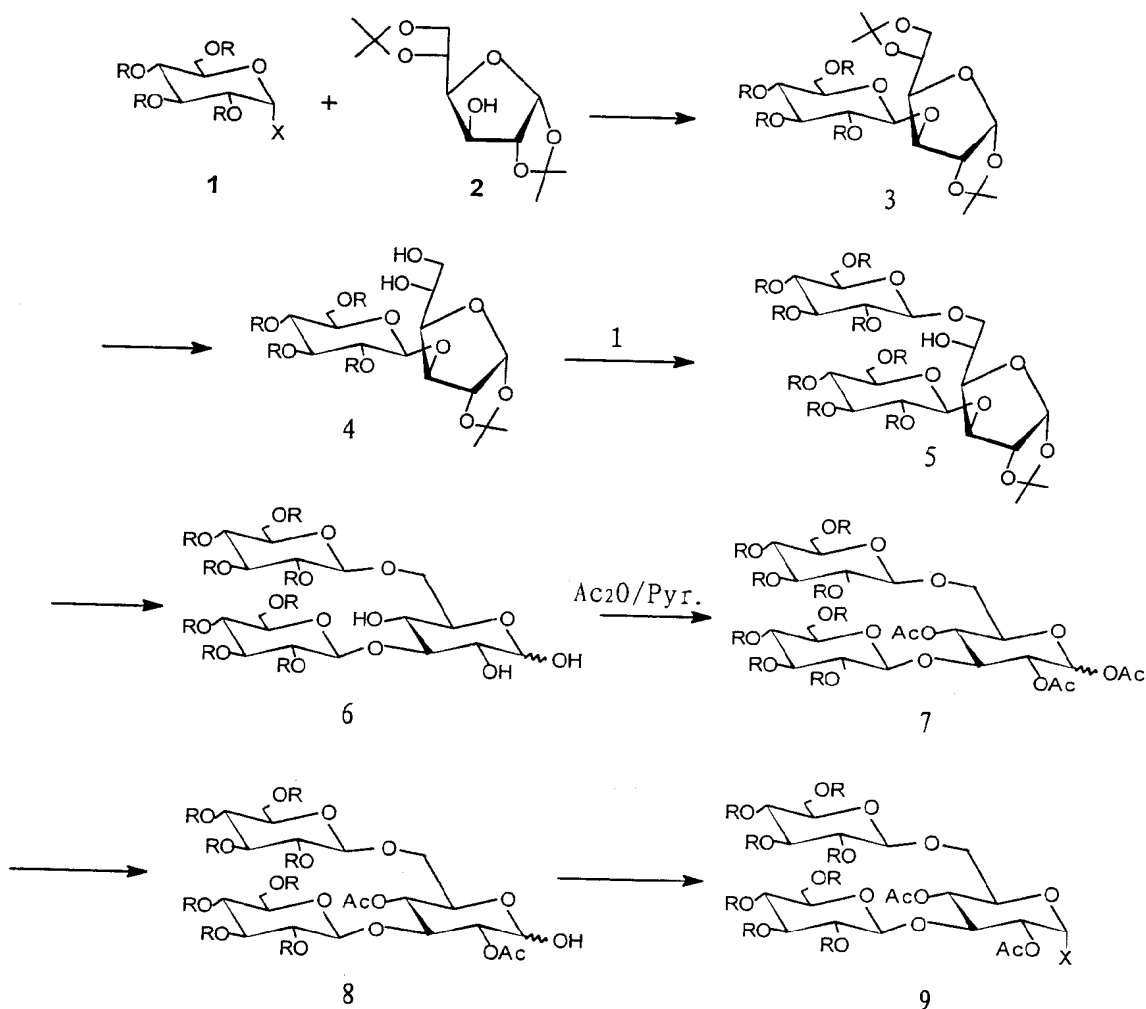
其特征在于，所述的银盐为碳酸银或三氟甲磺酸银。

20.权利要求16所述的方法，

其特征在于，所述3糖供体的制备步骤包括：

以1摩尔的酰基葡萄糖1为糖基供体，以1.2摩尔的1,2:5,6-二-O-异丙叉

基保护的葡萄糖 2 为糖基受体, 将糖基供体与糖基受体分别溶于二氯甲烷中, 然后将二者混合, 在路易斯酸催化, 室温搅拌下, 反应 2-4 小时, 制备出 1, 3- $\beta$ -连接的双糖 3, 选择性地水解掉 5,6-O-异丙叉基, 得到 5,6 位为游离羟基的双糖 4, 再使等摩尔比的糖基供体 1 与糖基受体 4 在路易斯酸催化, 室温搅拌下偶联, 得到 3 糖 5, 将 5 在酸性条件下水解得到 6, 接着乙酰化得到 7, 再选择性地脱掉 1 位的乙酰基得到 8, 8 与三氯乙腈反应, 得到三糖的糖基供体 9, 如下图所示:



式中: R 为  $\text{CH}_3\text{CO}-$  或  $\text{PhCO}-$

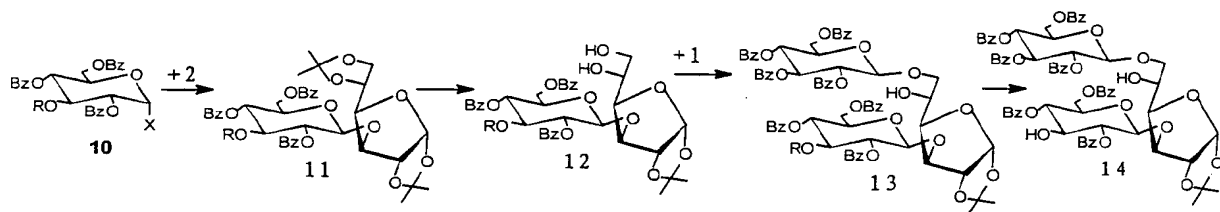
X 为 Br 或 Cl 或  $\text{CCl}_3\text{C}(\text{NH})-$ 。

21. 权利要求 16 所述的方法,

其特征在于, 所述的 3 糖受体的制备步骤包括:

用类似的方法合成 3 位为游离羟基的葡萄糖的 3 糖受体, 即用 3-O-非苯

甲酰基-2, 4, 6-三-O-苯甲酰基- $\alpha$ -D-葡萄糖的糖基供体 **10**, 使其与双糖受体 **2** 在路易斯酸催化下, 室温搅拌下偶联得到相应的 **3** 糖 **11**, 水解掉异丙叉基得到双糖 **12**, 使其与 **1** 偶联得到 **3** 糖 **13**, 选择性地水解掉 **3** 位的非苯甲酰基, 即得到三糖受体 **14**, 如下图所示:

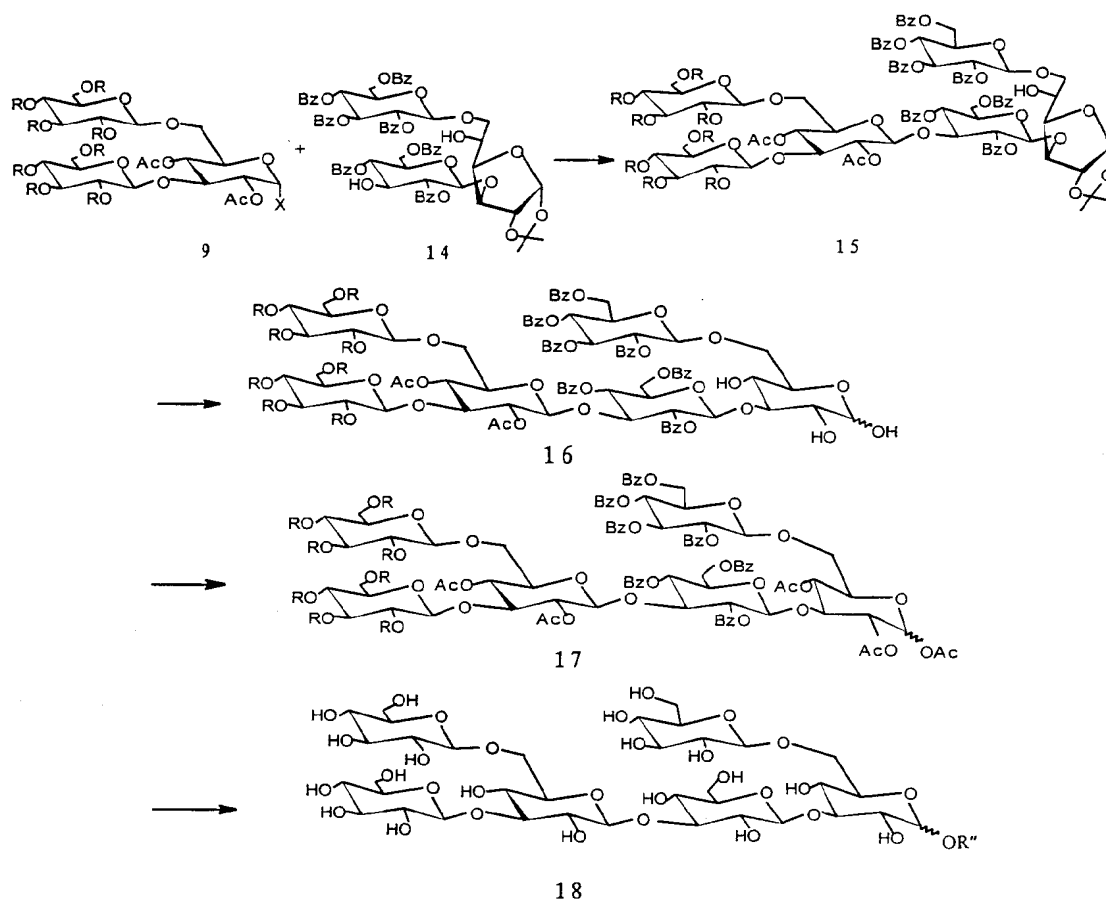


式中:  $R = \text{CH}_3\text{CO}-$ 、 $\text{ClCH}_2\text{CO}-$ 、烯丙基, Bn-或  $\text{MeOBn}-$ ,  $X = \text{Br}$ 、 $\text{Cl}$  或  $\text{CCl}_3\text{C}(\text{NH})-$ 。

22. 权利要求 16 所述的方法,

其特征在于, 所述 6 糖的制备步骤包括:

将等摩尔比的 3 糖供体 **9** 与 3 糖受体 **14** 在路易斯酸催化下, 室温搅拌下偶联, 得到部分保护的 6 糖 **15**, 水解掉异丙叉基同时扩环得到 **16**, 将 **16** 乙酰化, 得到 **17** 然后用砹脱掉所有酰基, 即得到端基为羟基的 6 糖 **18**, 或将 **17** 选择性脱掉 1 位乙酰基, 然后与  $\text{CH}_3\text{CN}$  在碱 (DBU) 催化下反应, 得到 6 糖的三氯乙酰亚胺酯, 使该亚胺酯与  $\text{C}_{1-12}$  烷基醇偶联, 再脱掉保护基, 即得到式 **18** 的 6 糖的  $\text{C}_{1-12}$  烷基苷。如下图所示:



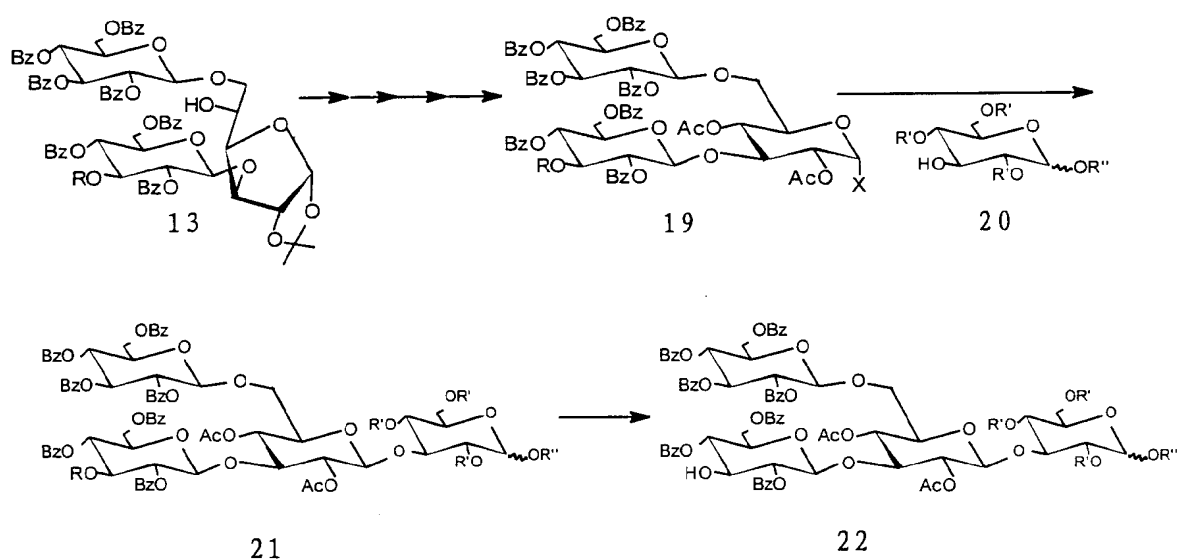
式中：R 为  $\text{CH}_3\text{CO}-$  或  $\text{PhCO}-$ ，X 为 Br、Cl 或  $\text{CCl}_3\text{C}(=\text{NH})\text{O}-$ ，

R'' 为氢或  $\text{C}_{1-12}$  烷基。

23. 权利要求 16 所述的方法，

其特征在于，所述 4 糖受体的制备步骤包括：

将 3 糖 13 水解、扩环、活化，得到另一个 3 糖供体 19，使其与三位为游离羟基的单糖 20 偶联即得到 4 糖 21，将其三位脱保护，即得到 4 糖受体 22：



式中：R 为  $\text{ClCH}_2\text{CO}-$ 、 $\text{CH}_3\text{CO}-$ 、烯基基、Bn-或  $\text{MeOC}_6\text{H}_4\text{CH}_2-$ ，

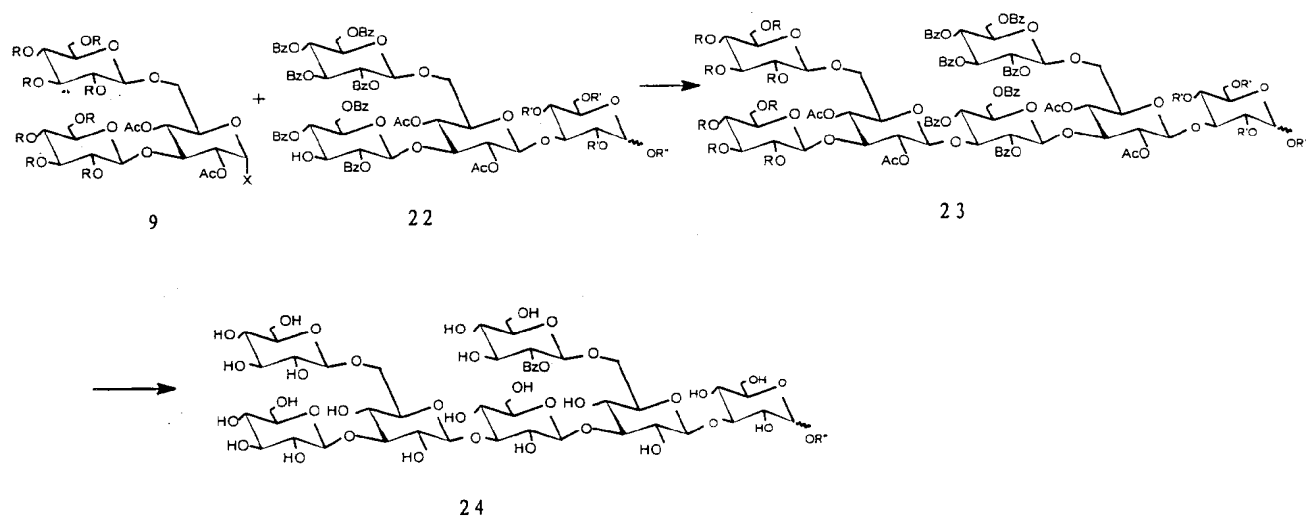
R' 为  $\text{CH}_3\text{CO}-$ 或  $\text{PnCO}-$ ，

R'' 为氢或  $\text{C}_{1-12}$  烷基。

24. 权利要求 16 所述的方法，

其特征在于，所述 7 糖的制备步骤包括：

将 3 糖供体 9 与 4 糖受体 22 偶联，得到保护的 7 糖 23，再去保护即得到所需要的 7 糖 24，其中 4 糖受体末端基及 7 糖末端基为  $\alpha$  或  $\beta$  连接，



式中：R 为烯丙基、Bn-、MeoBn-、 $\text{CH}_3\text{CO}-$ 、或氯乙酰基，

R' 为  $\text{CH}_3\text{CO}-$ 或  $\text{PhCO}-$ ，

R'' 为氢或  $\text{C}_{1-12}$  烷基，

X 为 Br、Cl 或三氯乙酰亚氨基。

25.一种可增强免疫力、抗肿瘤和治疗癌症的药物组合物,其特征在于,它含有治疗有效量的下述式[I]的寡糖,



式中： $[R]_n$  为所述寡糖的主链，R 为糖基，n 为 3-14 的整数；

(R<sub>1</sub>)<sub>m</sub>为所述寡糖的侧链, R<sub>1</sub>为糖基, m为0-4的整数;

并且, R 和 R<sub>1</sub> 可为相同或不同的糖基:

$R_2$  和  $R_3$  为端基，它们可相同或不同，其独自表示羟基、 $C_{1-12}$  烷氧基；

其中所述的主链糖基 R 为 1→3β 或 1→4β 连接；所述的侧链糖基 R<sub>1</sub> 与主链糖基 R 的连接为 1→6β 或 1→6α 连接。

和药物上可接受的载体。

26. 权利要求 25 所述的药物组合物.

其特征在于,所述的式[I]中的主链糖基R为1 $\rightarrow$ 3 $\beta$ 连接。

27. 权利要求 25 所述的药物组合物。

其特征在于,所述的式[I]中的主链R为葡萄糖基或甘露糖。

28. 权利要求 27 所述的药物组合物.

其特征在於，所述的式[I]中的主鏈R均為葡萄糖。

29. 权利要求 25 所述的药物组合物.

其特征在于，所述式[I]中的端基 R<sub>2</sub> 或 R<sub>3</sub> 为羟基、甲氧基、丙氧基、辛氧基或月桂氧基。

30. 权利要求 25 所述的药物组合物.

其特征在于,所述的式[I]中的主链R和侧链R<sub>1</sub>均为葡萄糖基。

31. 权利要求 25 所述的药物组合物.

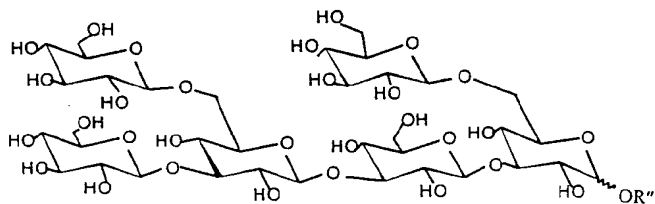
其特征在于，所述的式[I]中的寡糖为4糖、5糖、6糖或7糖。

32. 权利要求 31 所述的药物组合物.

其特征在于，所述的式[I]中的4糖、5糖、6糖或7糖均为葡萄糖。

33. 根据权利要求 32 所述的药物组合物.

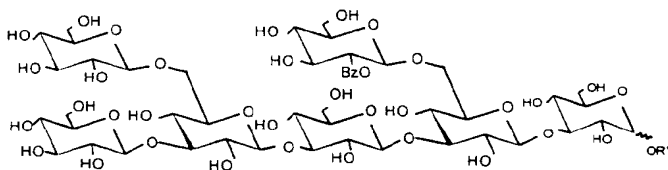
其特征在于，其中所述的式[I]中的 6 糖为下式 18：



18

式中：R''为氢、甲基、丙基、辛基或月桂基。

34.根据权利要求 32 所述的药物组合物，  
其特征在于，其中所述的式[I]中的 7 糖为下式 24：



24

式中：R''为氢、甲基、丙基、辛基或月桂基。

35.权利要求 25 所述的药物组合物，  
其特征在于，它可以以注射或口服的形式给药。

36.权利要求 1 所述的寡糖的用途，  
其特征在于，其用于制备增强免疫力、抗肿瘤、治疗癌症的药物。

37.权利要求 1 所述的寡糖的用途，  
其特征在于，其用于作为增强免疫力、抗肿瘤的保健品。



# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/CN00/00224

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C07H3/06, A61K31/702

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED C07H3/06, A61K31/702

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC7 C07H3/06, A61K31/702, C08B37/02

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

WPI, EPODOC, PAJ, CNPAT, heptasaccharide, oligosaccharide, lentinan, immune, antitumor

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)


Chinese Patent documents

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	CN 1153179A	15
A	CN 1093714A	1
A	IMMUNOPHARMACOLOGY 40 (1998) 187-198	25-37
A	CARBOHYDRATE RESEARCH, 245, (1993) 81-96	16

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"L" document which may throw doubts on priority claim (S) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&" document member of the same patent family
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search 6 Nov., 2000(06.11.2000)	Date of mailing of the international search report 09 NOV. 2000
Name and mailing address of the ISA/CN 6 Xitucheng Rd., Jimen Bridge, Haidian District, 100088 Beijing, China Facsimile No. 86-10-62019451	Authorized officer  Lit Yawen Telephone No. 86-10-62093843

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**  
Information on patent family members

International application No.  
PCT/CN00/00224

Patent documents cited in the search report	Publication date	Patent family members	Publication date
CN 1153179A	2 July, 1997	none	
CN 1093714A	19 October, 1994	none	

# 国际检索报告

国际申请号

PCT/CN00/00224

## A. 主题的分类

C07H3/06, A61K31/702

按照国际专利分类表(IPC)或者同时按照国家分类和 IPC 两种分类

## B. 检索领域 C07H3/06, A61K31/702, C08B37/02

检索的最低限度文献(标明分类体系和分类号)

IPC7 C07H3/06, A61K31/702, C08B37/02

包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献

中国专利文献

在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称和, 如果实际可行的, 使用的检索词)

WPI, EPODOC, PAJ, CNPAT, 七糖、寡糖、香菇多糖、免疫、抗肿瘤

## C. 相关文件

类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求编号
A	CN 1153179A	15
A	CN 1093714A	1
A	IMMUNOPHARMACOLOGY 40 (1998) 187-198	25-37
A	CARBOHYDRATE RESAERCH, 245, (1993) 81-96	16

☐ 其余文件在 C 栏的续页中列出。

☒ 见同族专利附件。

\* 引用文件的专用类型:

"A" 明确叙述了被认为不是特别相关的一般现有技术的文件

"E" 在国际申请日的当天或之后公布的在先的申请或专利

"L" 可能引起对优先权要求的怀疑的文件, 为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件

"O" 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件

"P" 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件

"T" 在申请日或优先权日之后公布的在后文件, 它与申请不相抵触, 但是引用它是为了理解构成发明基础的理论或原理

"X" 特别相关的文件, 仅仅考虑该文件, 权利要求所记载的发明就不能认为是新颖的或不能认为是有创造性

"Y" 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类游戏文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 权利要求记载的发明不具有创造性

"&" 同族专利成员的文件

国际检索实际完成的日期

06.11 月 2000 年(06.11.2000)

国际检索报告邮寄日期

09.11.2000 (09.11.00)

国际检索单位名称和邮寄地址

ISA/CN

中国北京市海淀区西土城路 6 号(100088)

传真号: 86-10-62019451

授权官员

文刘  
印亚 利亚文

电话号码: 86-10-62093843

# 国际检索报告

关于同族专利成员的情报

国际申请号

PCT/CN00/00224

检索报告中引用的 专利文件	公布日期	同族专利成员	公布日期
CN 1153179A	1997 年 7 月 2 日	无	
CN 1093714A	1994 年 10 月 19 日	无	